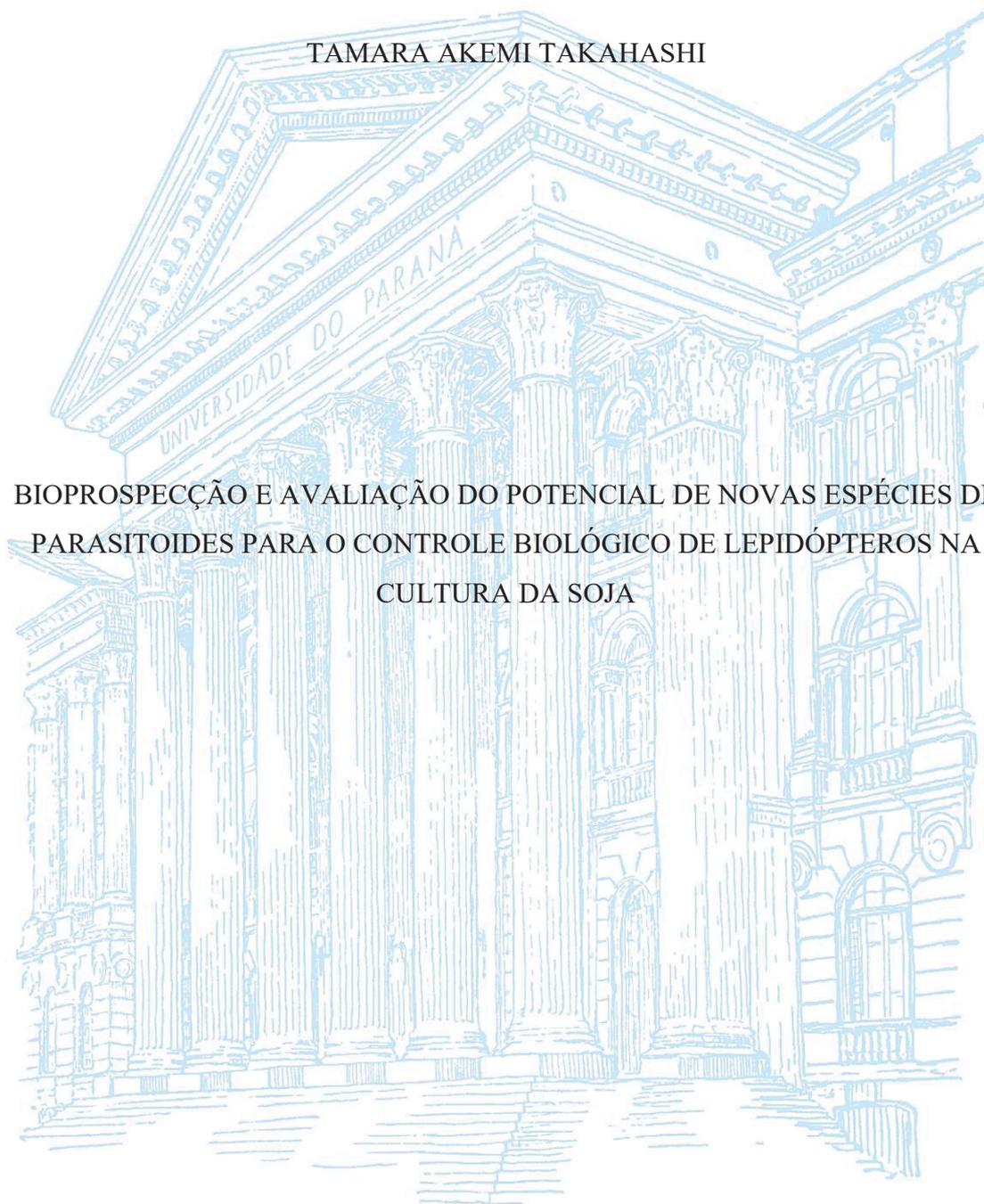


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

TAMARA AKEMI TAKAHASHI

BIOPROSPECÇÃO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE NOVAS ESPÉCIES DE
PARASITÓIDES PARA O CONTROLE BIOLÓGICO DE LEPIDÓPTEROS NA
CULTURA DA SOJA



CURITIBA

2021

TAMARA AKEMI TAKAHASHI

BIOPROSPECÇÃO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE NOVAS ESPÉCIES DE
PARASITOIDES PARA O CONTROLE BIOLÓGICO NA CULTURA DA SOJA

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em
Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal,
Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do
Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de
Doutora em Ciências.

Orientador: Prof. Phd. Luís Amilton Foerster

Coorientador: Prof. Dr. Cesar Augusto Marchioro

CURITIBA

2021

Takahashi, Tamara Akemi

Bioprospecção e avaliação do potencial de novas espécies de parasitoides para o controle biológico de lepidópteros na cultura da soja. / Tamara Akemi Takahashi. - Curitiba, 2021.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal).

Orientador: Luís Amilton Foerster

Coorientador: Cesar Augusto Marchioro

1. Parasitóides. 2. Trichogramma. 3. Soja - Cultivo. I. Foerster, Luís Amilton. II. Marchioro, Cesar Augusto. III. Título. IV. Universidade Federal do Paraná.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO AGRONOMIA
(PRODUÇÃO VEGETAL) - 40001016031P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL) da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **TAMARA AKEMI TAKAHASHI** intitulada: **BIOPROSPECÇÃO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE NOVAS ESPÉCIES DE PARASITÓIDES PARA O CONTROLE BIOLÓGICO DE LEPIDOPTEROS NA CULTURA DA SOJA**, sob orientação do Prof. Dr. LUÍS AMILTON FOERSTER, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 30 de Março de 2021.

Assinatura Eletrônica
30/03/2021 18:43:21.0
LUÍS AMILTON FOERSTER
Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica
06/04/2021 13:30:12.0
YELITZA COROMOTO COLMENAREZ
Avaliador Externo (CAB INTERNATIONAL)

Assinatura Eletrônica
01/04/2021 08:22:50.0
JOSE ROBERTO POSTALI PARRA
Avaliador Externo (UNIV. DE SÃO PAULO/ESCOLA SUP. DE AGRICULTURA LUIZ DE QUEIROZ)

Assinatura Eletrônica
31/03/2021 16:29:08.0
REGIANE CRISTINA OLIVEIRA DE FREITAS BUENO
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE EST. PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO/BOTUCATU)

Assinatura Eletrônica
08/04/2021 00:05:38.0
BRUNO ALEXIS ZACHRISSON SALAMINA
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE NACIONAL DO PANAMÁ)

À minha amada batchan Hisako Takahashi (in memoriam) por todo amor e cuidado.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Dr. Luís Amilton Foerster, por ter me dado a oportunidade e pela paciência na orientação ao longo dos últimos sete anos. Obrigada por ser a pessoa que mais acredita no meu potencial!

A todos os meus amigos do Laboratório de Controle Integrado de Insetos; Adélia Bischoff, Aline Borba, Ana Beatriz, Angélica Massaroli, Fernanda Paixão, Jade Bezerra, Jéssica Cocco, Juliane Vink, Hemilia Slompo, Marcelo Maciel e Marion Foerster. Obrigada por toda ajuda nas coletas, pela convivência no dia-a-dia e principalmente pelas palavras de incentivo. Em especial, quero agradecer ao meu querido amigo Guilherme Nishimura, figura essencial nessa tese, sem você Gui os panos-de-batida não teriam ‘graça’.

Aos meus amigos de outros laboratórios; Alessandra Benatto e Rubens Zimmermann. Ao Dr. André Martins que sempre esteve disposto a me ajudar nas dúvidas de taxonomia envolvendo Hymenoptera.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal (PGAPV) pela oportunidade em realizar o curso e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

A Central de Transporte (CENTRAN), pelo fornecimento de veículos na execução dos trabalhos de campo, em específico ao motorista Alessandro, que além de nos levar aos locais de coleta também ajudou diretamente nos trabalhos.

A todos os professores que foram fundamentais na minha construção como profissional, em destaque o Dr. Germano Rosado Neto pela honra em conviver e compartilhar momentos e a Dra. Elizabeth de Araújo Schwarz por me lembrar da importância da sistemática botânica.

Aos taxônomos Dra. Cecília Margaria, Dr. Daniel Aquino, Dr. Daniell Fernandes, Dr. Eduardo Carneiro, Dr. Eduardo Shimbori, Dr. Ronaldo Toma e Dr. Valmir Costa. Um agradecimento especial a Dra. Ranyse Barbosa Querino, por todo suporte e incentivo e oportunidade na descrição de uma nova espécie de *Trichogramma*.

Aos funcionários técnico-administrativos; Denise Vieira, Denise Weldt, Jefferson Krüger e Lucimara Antunes, obrigada pelo carinho e ajuda.

A banca de pré-defesa Dra. Marion Foerster e Dr. Cesar Marchioro, por toda colaboração e melhoria no trabalho.

Aos produtores rurais André Valenga e Edson Kachinski, que gentilmente cederam as áreas de coleta, e estiveram dispostos a nos ensinar e a aprender durante todo o processo.

A toda minha família, pelo apoio durante todo o período do doutorado, em destaque agradeço minha avó Leila que costurou todas as gaiolas de campo, meus avôs Hiroki e Jonas que pintaram as barras de apoio das gaiolas de campo, e a minha irmã Amanda que gentilmente disponibilizou os seus finais de semana durante o período de coleta da safra, para me auxiliar na criação das lagartas provenientes do levantamento de campo. A minha mãe Vera e meu pai Milton.

A todos que de alguma forma contribuíram com esse trabalho.

Muito obrigada!

RESUMO

A adoção de plantas geneticamente modificadas que expressam toxinas oriundas da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt), ocasionam mudanças na dinâmica de pragas e consequentemente nos seus inimigos naturais. A ocorrência de insetos naturalmente tolerantes ou resistentes a proteínas Bt demandam da utilização de outras ferramentas de controle atuando em conjunto, como o controle biológico, tornando o manejo mais robusto e sustentável. No entanto, são necessárias pesquisas de prospecção para determinar quais os agentes de controle estão adaptados ao modelo de cultivo Bt, onde o perfil das espécies de lepidópteros é diferente daquele encontrado nos plantios convencionais. O presente estudo teve como objetivo determinar as espécies de parasitoides larvais e de ovos com potencial de controle de lepidópteros resistentes e/ou tolerantes a soja Bt que expressa a toxina Cry1Ac. No primeiro capítulo, lagartas foram amostradas em uma área com soja Bt que expressa Cry1Ac e outra não-Bt durante duas safras, registrando as espécies de lagartas e o parasitismo natural. Espécies do gênero *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae) predominaram na área Bt, além do primeiro relato da ocorrência de *Peridroma saucia* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) em soja Bt e não-Bt. Na área não-Bt, predominou a subfamília Plusiinae. A média de parasitismo na área não-Bt foi de 25% e na área Bt de 22%. Proveniente dos parasitoides coletados, uma nova espécie de *Aleiodes* Wesmael (Hymenoptera: Braconidae) emergiu de lagartas do complexo *Spodoptera*, sendo um promissor agente de controle dessas espécies. No segundo capítulo, a ocorrência de parasitoides de ovos foi estudada durante três safras. A média do parasitismo natural na área Bt foi de 37,76% e na área não-Bt de 33,77%, sendo que a maior riqueza de espécies foi observada na área Bt. Foram coletados parasitoides pertencentes a três famílias: Aphelinidae (*Encarsia* sp.), Platygastridae (*Telenomus* spp.) e Trichogrammatidae (*Trichogramma* spp.). Do gênero *Telenomus* Haliday, seis espécies foram coletadas, das quais três são novas. Além disso, é relatada a primeira ocorrência de *Telenomus remus* Nixon no sul do Brasil. Sete espécies de *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) foram coletadas, sendo que *Trichogramma foersteri* Takahashi, é descrita no terceiro capítulo e detalhes do seu parasitismo em espécies que ocorrem em área Bt e não-Bt são fornecidos. E por fim, no quarto capítulo, os parâmetros biológicos de *Aleiodes* sp. nov., foram avaliados em lagartas de *Spodoptera eridania* (Stoll) alimentadas com soja Bt e soja não-Bt e a possível transferência tritrófica de Cry1Ac em um ensaio de imunoabsorção enzimática. Os resultados comprovam a eficiência de *Aleiodes* sp. nov., causando em poucos dias a morte do hospedeiro e completando o ciclo nas lagartas que se alimentaram das duas cultivares, não sendo detectada a presença do Bt no terceiro nível trófico. A biodiversidade de parasitoides encontradas neste estudo provavelmente é influenciada pelos fragmentos de paisagem natural presentes no entorno das áreas. As novas espécies de parasitoides podem contribuir no controle de espécies naturalmente tolerantes ou resistentes, retardando a resistência à tecnologia Bt.

Palavras-chave: parasitoides de ovos. *Trichogramma*. *Telenomus*. *Aleiodes*. *Spodoptera*.

ABSTRACT

The adoption of genetically modified plants that express toxins from the bacterium *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt), cause changes in the dynamics of pests and consequently in their natural enemies. The occurrence of insects naturally tolerant or resistant to Bt proteins requires the use of other control tools acting together, such as biological control, making management more robust and sustainable. However, prospective research is needed to determine which control agents are adapted to the Bt cultivation model, where the profile of lepidopteran species is different from that found in conventional plantations. The present study aimed to determine the species of larval parasitoids and eggs with the potential to control resistant and / or tolerant Lepidoptera Bt that expresses the Cry1Ac toxin. In the first chapter, caterpillars were sampled in an area with Bt soy that expresses Cry1Ac and another non-Bt during two crop seasons, registering the species of caterpillars and the natural parasitism. Species of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae) predominated in the Bt area, in addition to the first report of the occurrence of *Peridroma saucia* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) in Bt and non-Bt soybean. In the non-Bt area, the subfamily Plusiinae predominated. The average parasitism in the non-Bt area was 25% and in the Bt area was 22%. From the collected parasitoids, a new species of *Aleiodes* Wesmael (Hymenoptera: Braconidae) emerged from caterpillars of the *Spodoptera* complex, being a promising agent for controlling these species. In the second chapter, the occurrence of egg parasitoids was studied during three crop season. The average of natural parasitism in the Bt area was 37.76% and in the non-Bt area 33.77%, with the highest species richness observed in the Bt area. Parasitoids belonging to three families were collected: Aphelinidae (*Encarsia* sp.), Platygastriidae (*Telenomus* spp.) And Trichogrammatidae (*Trichogramma* spp.). Of the genus *Telenomus* Haliday, six species were collected, of which three are new. In addition, the first occurrence of *Telenomus remus* Nixon in southern Brazil is reported. Seven species of *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) were collected, and *Trichogramma foersteri* Takahashi, is described in the third chapter and details of its parasitism in species that occur in Bt and non-Bt areas are provided. And finally, in the fourth chapter, the biological parameters of *Aleiodes* sp. nov., were evaluated in *Spodoptera eridania* (Stoll) caterpillars fed with Bt soybean and non-Bt soybean and the possible tritrophic transfer of Cry1Ac in an enzyme-linked immunosorbent assay. The results prove the efficiency of *Aleiodes* sp. nov., causing in a few days the death of the host and completing the cycle in the caterpillars that fed on the two cultivars, the presence of Bt in the third trophic level not being detected. The biodiversity of parasitoids found in this study is probably influenced by the fragments of natural landscape present around the evaluated areas. The new species of parasitoids can contribute to the control of species naturally tolerant or resistant, delaying resistance to Bt technology.

Key-words: egg parasitoids. *Trichogramma*. *Telenomus*. *Aleiodes*. *Spodoptera*.

LISTA DE FIGURAS

3 CAPÍTULO I – A CONTRIBUIÇÃO DO PARASITISMO NATURAL NO CONTROLE DE LEPIDÓPTEROS EM SOJA Bt E SOJA NÃO-Bt: BIOPROSPECÇÃO DE PARASITOIDES LARVAIS

- FIGURA 1 - MÉDIA DE LAGARTAS COLETADAS E PARASITADAS POR PANO-DE-BATIDA EM CULTIVAR DE SOJA NÃO-Bt (A,C) E DE SOJA BT (B,D) NO MUNICÍPIO DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS, ESTADO DO PARANÁ, DURANTE AS SAFRAS DE 2017/2018 E 2018/2019. SETAS INDICAM APLICAÇÃO DE INSETICIDA P = LAGARTAS PEQUENAS (<1,5 CM) E G = LAGARTAS GRANDES (>1,5 CM).....39
- FIGURA 2 - MÉDIA DE LAGARTAS COLETADAS E PARASITADAS PELO MÉTODO DO PANO-DE-BATIDA E OS FATORES ABIÓTICOS NA ÁREA NÃO-Bt (A,B,C) E NA ÁREA Bt (D,E,F) DURANTE OS PERÍODOS DE COLETA NAS SAFRAS DE 2017/2018 E 2018/2019 NA CULTURA DA SOJA NO MUNICÍPIO DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS.....40
- FIGURA 3 - PARASITISMO POR FAMÍLIA DAS ORDENS DIPTERA E HYMENOPTERA EM LAGARTAS DE *Anticarsia gemmatalis*, COMPLEXO PLUSIINAE E *Peridroma saucia* COLETADAS NAS SAFRAS 2017/2018 E 2018/2019 EM SOJA NÃO-Bt NO MUNICÍPIO DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS42
- FIGURA 4 - PARASITISMO POR FAMÍLIA DAS ORDENS DIPTERA E HYMENOPTERA EM RELAÇÃO AO HOSPEDEIRO COLETADO NAS SAFRAS 2017/2018 E 2018/2019 NA CULTURA DA SOJA, EM CULTIVAR DE SOJA RR (A - B) E SOJA BT (C - D) NO MUNICÍPIO DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS.....43

4 CAPÍTULO II – RIQUEZA DE ESPÉCIES E COMPOSIÇÃO DA COMUNIDADE DE PARASITOIDES DE OVOS EM LAVOURA DE SOJA BT E SOJA NÃO-BT

- FIGURA 1 - VISTA AÉREA DAS DUAS ÁREAS DE COLETA. PONTOS DE COLETA DA ÁREA NÃO-Bt (A) E DA ÁREA BT (B) DURANTE AS SAFRAS DE 2017/2018 E 2018/2019. PONTOS DE COLETA DA ÁREA NÃO-Bt (C) E DA ÁREA BT (D) DURANTE AS SAFRAS DE 2019/2020.....60

FIGURA 2 - NÚMERO DE OVOS COLETADOS E OVOS PARASITADOS EM RELAÇÃO A MÉDIA DOS FATORES ABIÓTICOS EM CADA SEMANA DE COLETA: (A) TEMPERATURA (°C) MÍNIMA, MÉDIA E MÁXIMA; (B) PRECIPITAÇÃO (MM), (C) UMIDADE RELATIVA (%). SETAS INDICAM PULVERIZAÇÃO COM INSETICIDAS: ^{1,2,3} ÁREA RR: AMPLIGO[®] (LAMBDA-CIALOTRINA + CLORANTRANILIPROLE) + MATCH[®] EC (LUFENUROM), ⁴ ÁREA RR: PROCLAIM[®] 50 (BENZOATO DE EMAMECTINA), ⁵ ÁREA BT: GALIL[®] SC (IMIDACLOPRIDO + BIFENTRINA).....67

FIGURA 3 - NÚMERO DE OVOS PARASITADOS (± ERRO PADRÃO) EM RELAÇÃO À SAFRA DE COLETA. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NÃO DIFEREM ENTRE SI POR ANÁLISE DE VARIÂNCIA ($\alpha= 5\%$).....69

5 CAPÍTULO III - AN INTEGRATIVE TAXONOMY OF A NEW SPECIES OF *Trichogramma* WESTWOOD (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) WITH HIGH REPRODUCTIVE CAPACITY

FIGURA 1 - *Trichogramma foersteri* TAKAHASHI sp. nov. MALE. A- ANTENNA; B- FOREWING AND HIND WING.....90

FIGURA 2 - MALE GENITALIA OF *Trichogramma foersteri* TAKAHASHI sp. nov. A- DORSAL VIEW; B- VENTRAL VIEW.....91

FIGURA 3 - *Trichogramma foersteri* sp. nov. MALE. A- MESOESCUTUM AND SCUTELLUM; B-D GENITALIA (B-VENTRAL VIEW; C- DORSAL VIEW; D- DETAIL OF ROUNDED INTERVOSELLAR PROCESS (IVP), E- BASICONIC SENSILLA POSITION 2.....92

FIGURA 4 - MOLECULAR PHYLOGENETIC ANALYSIS WITH ITS2 OF *Trichogramma foersteri* TAKAHASHI sp. nov. AND SOUTH AMERICAN SPECIES BY THE MAXIMUM LIKELIHOOD METHOD. THE TREE WITH THE HIGHEST LOG LIKELIHOOD (-6124.11) IS SHOWN. THE PERCENTAGE OF TREES IN WHICH THE ASSOCIATED TAXA CLUSTERED TOGETHER IS SHOWN NEXT TO THE BRANCHES. THE ANALYSIS INVOLVED 18 NUCLEOTIDE SEQUENCES. THERE WAS A TOTAL OF 851 POSITIONS IN THE FINAL DATASET.....94

- FIGURA 5 - MOLECULAR PHYLOGENETIC ANALYSIS WITH ITS2 OF *Trichogramma foersteri* TAKAHASHI sp. nov. AND RELATED SOUTH AMERICAN SPECIES WITH ELONGATED INTERVOSELLAR PROCESS BY THE MAXIMUM LIKELIHOOD METHOD. THE TREE WITH THE HIGHEST LOG LIKELIHOOD (-1994.40) IS SHOWN. THE PERCENTAGE OF TREES IN WHICH THE ASSOCIATED TAXA CLUSTERED TOGETHER IS SHOWN NEXT TO THE BRANCHES. THE ANALYSIS INVOLVED 6 NUCLEOTIDE SEQUENCES. THERE WAS A TOTAL OF 574 POSITIONS IN THE FINAL DATASET.....95
- FIGURA 6 - MOLECULAR PHYLOGENETIC ANALYSIS WITH THE UNION OF ITS2 AND COI OF *Trichogramma foersteri* TAKAHASHI sp. nov. AND ALL *Trichogramma* SPECIES AVAILABLE IN THE DATA BY MAXIMUM LIKELIHOOD METHOD. THE TREE WITH THE HIGHEST LOG LIKELIHOOD (-12331.75) IS SHOWN. THE PERCENTAGE OF TREES IN WHICH THE ASSOCIATED TAXA CLUSTERED TOGETHER IS SHOWN NEXT TO THE BRANCHES. THE ANALYSIS INVOLVED 22 NUCLEOTIDE SEQUENCES. THERE WAS A TOTAL OF 1350 POSITIONS IN THE FINAL DATASET.....96
- FIGURA 7 - LEPIDOPTERAN HOST SPECIES SCREENED IN LABORATORY FOR PARASITISM BY *Trichogramma foersteri* TAKAHASHI sp. nov. (25° ± 1°C, RH 70 ± 10% AND PHOTOPHASE 14:10 H L:D) (*NO EMERGENCE).....98

6 CAPÍTULO IV – POTENCIAL DE *Aleiodes* SP. NOV. (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) NO CONTROLE DE *Spodoptera eridania* (STOLL) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE), E IMPACTO DA PROTEÍNA CRY1AC NO TERCEIRO NÍVEL TRÓFICO.

- FIGURA 1 - PARASITISMO (MÉDIA ± ERRO PADRÃO) DE *Aleiodes* sp. nov. DA GERAÇÃO PARENTAL F₀ (A) E NA GERAÇÃO F₁ (B) EM LAGARTAS DE *Spodoptera eridania* ALIMENTADAS COM SOJA CONVENCIONAL E Bt AO LONGO DE TRÊS DIAS DE AVALIAÇÃO. TEMPERATURA DE 25 ± 2 °C, 60% ± 10 UR E FOTOPERÍODO DE 14:10. NS = NÃO SIGNIFICATIVO PELO TESTE DE TUKEY ($P < 0,05$) EM COMPARAÇÕES ENTRE OS TRÊS DIAS DE AVALIAÇÕES. BARRAS COM LETRAS MINÚSCULAS DIFERENTES

REPRESENTAM DIFERENÇA ESTATÍSTICA PELO TESTE T DE STUDENT ($P < 0,05$) AVALIANDO O PARASITISMO ENTRE OS DOIS TRATAMENTOS NO MESMO DIA.....	113
FIGURA 2 -LONGEVIDADE (DIAS) DAS GERAÇÕES F ₁ E F ₂ DE <i>Aleiodes</i> sp. nov. ORIUNDOS DE SOJA CONVENCIONAL (NÃO-Bt) E SOJA TRANSGÊNICA Bt. TEMPERATURA DE 25 ± 2 °C, $60\% \pm 10$ U.R. E FOTOPERÍODO DE 14:10H. COMPARAÇÃO DAS CURVAS SEM DIFERENÇA ESTATÍSTICA PELO TESTE DE LOG-RANK.....	116
FIGURA 3 – VALORES DE ABSORBÂNCIA (MÉDIA \pm ERRO PADRÃO) DETECTADOS EM FOLHAS DE SOJA Bt E NÃO-Bt E NO TERCEIRO NÍVEL TRÓFICO NAS GERAÇÕES F ₁ E F ₂ DO PARASITOIDE <i>Aleiodes</i> sp. nov. QUE SE DESENVOLVERAM EM HOSPEDEIROS ALIMENTADOS COM FOLHAS DE SOJA DOS MESMOS TRATAMENTOS. MÉDIAS SEGUIDAS DA MESMA LETRA NÃO DIFEREM ENTRE SI ESTATISTICAMENTE PELO TESTE DE TUKEY ($P < 0,05$).....	117

LISTA DE TABELAS

3 CAPÍTULO I – A CONTRIBUIÇÃO DO PARASITISMO NATURAL NO CONTROLE DE LEPIDÓPTEROS EM SOJA BT E SOJA NÃO-BT: BIOPROSPECÇÃO DE PARASITOIDES LARVAIS

TABELA 1 - NÚMERO DE LAGARTAS COLETADAS E PARASITADAS NA ÁREA COM SOJA NÃO-Bt, NO MUNICÍPIO DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS (25°36'49"S, 49°08'01"W), PR, DURANTE AS SAFRAS DE 2017/2018 (A) E 2018/2019 (B).....	36
TABELA 2 - NÚMERO DE LAGARTAS COLETADAS E PARASITADAS NA ÁREA DE SOJA Bt, NO MUNICÍPIO DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS, PR (25°36'49"S, 49°08'01"W) DURANTE AS SAFRAS DE 2017/2018 (A) E 2018/2019 (B).....	37
TABELA 3 - MODELOS SIMPLIFICADOS QUE AVALIARAM OS EFEITOS DAS VARIÁVEIS ABIÓTICAS + NÚMERO DE LAGARTAS PARASITADAS NA VARIÁVEL NÚMERO DE LAGARTAS COLETADAS. K= NÚMERO DE PARÂMETROS ESTIMADOS, LOGLIK = PROBABILIDADE LOGARÍTIMICA, AICC= VALOR DE AKAIKE CORRIGIDO, ΔAICC =DIFERENÇA ENTRE O VALOR DE AICC DE CADA MODELO E O MENOR VALOR DE AICC OBTIDO, WΔAICC = PESO DE AKAIKE CORRIGIDO.....	38
TABELA 4 - MODELOS SIMPLIFICADOS QUE AVALIARAM OS EFEITOS DAS VARIÁVEIS ABIÓTICAS NA VARIÁVEL NÚMERO DE LAGARTAS PARASITADAS. K= NÚMERO DE PARÂMETROS ESTIMADOS, LOGLIK = PROBABILIDADE LOGARÍTIMICA, AICC= VALOR DE AKAIKE CORRIGIDO, ΔAICC =DIFERENÇA ENTRE O VALOR DE AICC DE CADA MODELO E O MENOR VALOR DE AICC OBTIDO, WΔAICC = PESO DE AKAIKE CORRIGIDO.	38

4 CAPÍTULO II – RIQUEZA DE ESPÉCIES E COMPOSIÇÃO DA COMUNIDADE DE PARASITOIDES DE OVOS EM LAVOURA DE SOJA BT E SOJA NÃO-BT

TABELA 1 - MODELOS SIMPLIFICADOS QUE AVALIARAM OS EFEITOS DAS VARIÁVEIS ABIÓTICAS + NÚMERO DE OVOS PARASITADOS NA VARIÁVEL NÚMERO DE OVOS COLETADOS. OS MODELOS COMBINARAM AS VARIÁVEIS NÚMERO DE OVOS PARASITADOS (OP), MÉDIA DA AMPLITUDE TÉRMICA (AMPL), MÉDIA DA PRECIPITAÇÃO (PRECIP), MÉDIA DA UMIDADE RELATIVA (UR). K= NÚMERO DE PARÂMETROS ESTIMADOS, LOGLIK = PROBABILIDADE LOGARÍTIMICA, AICC= VALOR DE AKAIKE CORRIGIDO, Δ AICC =DIFERENÇA ENTRE O VALOR DE AICC DE CADA MODELO E O MENOR VALOR DE AICC OBTIDO, W Δ AICC = PESO DE AKAIKE CORRIGIDO.....66

TABELA 2 - MODELOS SIMPLIFICADOS QUE AVALIARAM OS EFEITOS DAS VARIÁVEIS ABIÓTICAS NA VARIÁVEL NÚMERO DE OVOS PARASITADOS. OS MODELOS COMBINARAM AS VARIÁVEIS: MÉDIA DA AMPLITUDE TÉRMICA (AMPL), MÉDIA DA PRECIPITAÇÃO (PRECIP), MÉDIA DA UMIDADE RELATIVA (UR). K= NÚMERO DE PARÂMETROS ESTIMADOS, LOGLIK = PROBABILIDADE LOGARÍTIMICA, AICC= VALOR DE AKAIKE CORRIGIDO, Δ AICC =DIFERENÇA ENTRE O VALOR DE AICC DE CADA MODELO E O MENOR VALOR DE AICC OBTIDO, W Δ AICC = PESO DE AKAIKE CORRIGIDO.66

TABELA 3 - MÉDIA DE OVOS PARASITADOS (\pm ERRO PADRÃO) EM RELAÇÃO AS PONTOS DE DISTRIBUIÇÃO DAS GAIOLAS EM DUAS ÁREAS (BT E NÃO-Bt) NO MUNICÍPIO DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS (25°36'49"S, 49°08'01"W), NO ESTADO DO PARANÁ, DURANTE OS MESES DE JANEIRO A MARÇO NAS SAFRAS 2017/2018, 2018/2019 E 2019/2010 DA CULTURA DA SOJA. VALORES ENTRE PARÊNTESES INDICAM O NÚMERO TOTAL DE OVOS PARASITADOS COLETADOS POR GAIOLA.....70

TABELA 4 - NÚMERO DE INDIVÍDUOS POR ESPÉCIES DE PARASITÓIDES DE OVOS DA FAMÍLIA APHELINIDAE, PLATYGASTRIDAE E TRICHOGRAMMATIDAE COLETADOS EM DUAS ÁREAS (BT E NÃO-Bt) NO MUNICÍPIO DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS (25°36'49"S, 49°08'01"W), NO

ESTADO DO PARANÁ, DURANTE OS MESES DE JANEIRO A MARÇO
NAS SAFRAS 2017/2018, 2018/2019 E 2019/2010 DA CULTURA DA
SOJA.....72

TABELA 5 – ÍNDICE FAUNÍSTICO E DIVERSIDADE DE ESPÉCIES DE PARASITÓIDES
DE OVOS COLETADOS NA CULTURA DA SOJA NOS PERÍODOS DE
JANEIRO A MARÇO NAS SAFRAS DE 2017/2018, 2018/2019 E 2019/2020
NO MUNICÍPIO DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS (25°36'49"S, 49°08'01"W), NO
ESTADO DO PARANÁ.....73

5 CAPÍTULO III - AN INTEGRATIVE TAXONOMY OF A NEW SPECIES OF *Trichogramma* WESTWOOD (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) WITH HIGH REPRODUCTIVE CAPACITY

TABELA 1 - NUMBER (\pm SE) OF EGGS PARASITIZED, UNVIABLE EGGS BY
NONREPRODUCTIVE MORTALITY AND TOTAL MORTALITY CAUSED
BY FEMALES OF *Trichogramma foersteri* DURING THREE DAYS OF
OBSERVATION AT 25 ± 2 °C, 60 ± 10 % RELATIVE HUMIDITY AND 14:10
H L:D PHOTOPERIOD.97

6 CAPÍTULO IV – POTENCIAL DE *Aleiodes* SP. NOV. (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) NO CONTROLE DE *Spodoptera eridania* (STOLL) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE), E IMPACTO DA PROTEÍNA CRY1AC NO TERCEIRO NÍVEL TRÓFICO.

TABELA 1 – PARASITISMO ACUMULADO (MÉDIA \pm ERRO PADRÃO), DAS
GERAÇÕES PARENTAL (F₀) E F₁ E PORCENTAGEM DE EMERGÊNCIA E
NÚMERO DE PARASITÓIDES NÃO EMERGIDOS DE *Aleiodes* sp. nov. NAS
GERAÇÕES F₁ E F₂ CRIADOS EM LAGARTAS DE *Spodoptera eridania*
ALIMENTADAS COM SOJA NÃO-Bt (CONVENCIONAL) E Bt.
TEMPERATURA DE 25 ± 2 °C, $60\% \pm 10$ UR E FOTOPERÍODO DE
14:10.....112

TABELA 2 – EFEITO DE SOJA CRY1AC SOBRE O TEMPO DE DESENVOLVIMENTO
E PESO DAS PUPAS (MÉDIA \pm ERRO PADRÃO) DA GERAÇÃO F₁ DE
Aleiodes sp. nov. QUE SE DESENVOLVERAM EM LARVAS DE *Spodoptera*

eridania ALIMENTADAS COM SOJA NÃO-BT (CONVENCIONAL) E Bt (25 ± 2 °C, $60\% \pm 10$ UR E FOTOPERÍODO DE 14:10).....114

TABELA 3 – EFEITO DE SOJA CRY1AC SOBRE O TEMPO DE DESENVOLVIMENTO E PESO DAS PUPAS (MÉDIA \pm ERRO PADRÃO) DA GERAÇÃO F₂ DE *Aleiodes* sp. nov. QUE SE DESENVOLVERAM EM LAGARTAS DE *Spodoptera eridania* ALIMENTADAS COM SOJA CONVENCIONAL E SOJA BT. TEMPERATURA DE 25 ± 2 °C, $60\% \pm 10$ UR E FOTOPERÍODO DE 14:10H.115

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
REFERÊNCIAS	20
3 CAPÍTULO I – A CONTRIBUIÇÃO DO PARASITISMO NATURAL NO CONTROLE DE LEPIDÓPTEROS EM SOJA BT E NÃO-BT: BIOPROSPECÇÃO DE PARASITOIDES LARVAIS	28
1 INTRODUÇÃO.....	30
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	32
3 RESULTADOS	35
4 DISCUSSÃO.....	45
REFERÊNCIAS	49
4 CAPÍTULO II – RIQUEZA DE ESPÉCIES E COMPOSIÇÃO DA COMUNIDADE DE PARASITOIDES DE OVOS EM LAVOURA DE SOJA BT E NÃO-BT	54
1 INTRODUÇÃO.....	56
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	58
3 RESULTADOS	65
4 DISCUSSÃO.....	74
REFERÊNCIAS	79
5 CAPÍTULO III - AN INTEGRATIVE TAXONOMY OF A NEW SPECIES OF <i>TRICHOGRAMMA</i> WESTWOOD (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) WITH HIGH REPRODUCTIVE CAPACITY	85
1 INTRODUCTION.....	86
2 MATERIAL AND METHODS.....	87
3 RESULTS.....	90
REFERENCES	100
6 CAPÍTULO IV – POTENCIAL DE <i>ALEIODES</i> SP. NOV. (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) NO CONTROLE DE <i>SPODOPTERA ERIDANIA</i> (STOLL) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) E IMPACTO DA PROTEÍNA CRY1AC NO TERCEIRO NÍVEL TRÓFICO.	103
1 INTRODUÇÃO.....	105
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	107
3 RESULTADOS	112

4 DISCUSSÃO.....	118
REFERÊNCIAS	122
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	127
REFERÊNCIAS	129

1 INTRODUÇÃO GERAL

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) ocupa a maior extensão entre todas as lavouras no Brasil, com área plantada de 36,950 milhões de hectares na safra de 2019/2020, e produção de 124,845 milhões de toneladas. Atualmente, o país é o principal produtor mundial desse grão (CONAB, 2020), no entanto, a produtividade poderia ser maior se as perdas ocasionadas pelo ataque de insetos fossem reduzidas (OERKE; DEHNE, 2004). Estima-se que, mesmo adotando-se estratégias de controle, as perdas ocasionadas somente pelo ataque de pragas na cultura da soja ocasionam uma redução de 7,7% na produtividade (OLIVEIRA et al., 2014).

Atualmente, a principal e mais moderna ferramenta de controle de insetos-praga disponível no mercado para grandes culturas é o plantio de cultivares geneticamente modificadas que expressam proteínas com ação inseticida derivadas da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) (BERNAL, 2010; ROMEIS et al., 2019). Essa tecnologia proporciona um manejo eficaz dos insetos-alvo, uma vez que a expressão das proteínas ocorre em todos os tecidos da planta. Além da possibilidade de aumento de produtividade através do controle eficiente dos insetos-alvo, as plantas Bt facilitam o manejo da lavoura, pois diminuem a necessidade de aplicação de inseticidas químicos para as pragas-alvo da tecnologia e, conseqüentemente, reduzem o impacto ao ambiente e à saúde humana (BROOKES, 2018). Além disso a diminuição no uso de inseticidas também pode impactar positivamente na população de inimigos naturais presentes na área (SHELTON; ZHAO; ROUSH, 2002; LU et al., 2012; KLÜMPER; QAIM, 2014).

Entretanto, a adoção de uma única tática de manejo de pragas tem efeito apenas a curto prazo (BUENO et al., 2021). Apesar das vantagens da adoção de transgênicos Bt, um dos maiores desafios para o uso sustentável desta tecnologia é o retardamento da evolução da resistência de insetos às toxinas Bt, cujo progresso pode ser atenuado com a adoção de boas práticas agrícolas como a presença de área de refúgio e a associação de outras táticas de controle, preconizadas pelo Manejo Integrado de Pragas (MIP) (MONNERAT et al., 2015; ANDERSON et al., 2019). Além de insetos resistentes ao Bt em decorrência da mudança na composição de lepidópteros-praga no agroecossistema, espécies que não são suscetíveis às toxinas Bt se tornam mais abundantes e ocupam o nicho deixado pelos insetos-alvo, e assim podem vir a ocasionar danos à cultura (ZHAO et al., 2010; CATARINO et al. 2015).

O controle biológico é uma ferramenta sustentável, que potencializa o controle de insetos tolerantes e resistentes a toxinas Bt, e colabora com o retardamento da evolução de resistência a esta tecnologia (LIU et al., 2014), tornando o manejo mais robusto e sustentável.

O uso do controle biológico no Brasil ainda é limitado a certas regiões e/ou culturas, sendo que um dos principais gargalos para a sua expansão é a falta da exploração de novos agentes de controle biológico (PARRA; COELHO JUNIOR, 2018) que sejam eficientes no controle de espécies tolerantes a cultivos transgênicos. Uma vez que o Brasil possui a maior diversidade de insetos no mundo, explorar e usufruir dessa biodiversidade pode gerar impactos socioeconômicos e ambientais que colocarão o país em posição de destaque na produção agrícola sustentável.

Além de afetarem a dinâmica de pragas, os sistemas de cultivo Bt também influenciam as interações com os inimigos naturais, principalmente os parasitoides, pois normalmente estes são agentes de controle biológico específicos, diferentemente dos predadores que se alimentam de várias espécies durante a vida. Os parasitoides completam o desenvolvimento em um único hospedeiro, tornando-os assim mais expostos às proteínas do Bt (CHEN et al., 2008). Além disso, os parasitoides que se desenvolvem em hospedeiros que se alimentaram de plantas Bt podem ser afetados de forma direta ou indireta pelas toxinas contidas na planta (BERNAL, 2010). Considerando a importância do controle biológico em culturas transgênicas Bt, objetivou-se estudar a composição de espécies de lepidópteros e os parasitoides larvais e de ovos presentes em duas áreas, uma com soja Bt e outra com soja não-Bt, a fim de identificar espécies que possam apresentar potencial de controle de uso conservativo e aplicado e avaliar a possível transferência de Cry1Ac no terceiro nível trófico em uma nova espécie de parasitoide larval.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 DINÂMICA DE PRAGAS DESFOLHADORAS E MUDANÇAS OCASIONADAS PELA SOJA Bt

A cultura da soja está exposta ao ataque de insetos-praga desde a semeadura até a colheita (HOFFMANN-CAMPO et al., 2012). A lagarta-da-soja *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Erebidae) era encontrada em todos os locais de cultivo de soja no Brasil, sendo considerada por um longo período como a principal praga desfolhadora da cultura (HOFFMANN-CAMPO et al., 2000; MOSCARDI et al., 2012). Espécies do complexo Plusiinae, sendo a mais abundante a lagarta-falsa-medideira *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae), foram consideradas por muito tempo como pragas secundárias, pois eram mantidas em baixos níveis populacionais por meio do controle biológico natural, principalmente através da ação de fungos entomopatogênicos (CORRÊA et al., 1977; MORAES et al., 1991; MOSCARDI et al., 2012). No entanto, com a entrada no país da ferrugem asiática *Phakopsora pachyrhizi* Sydow, constatada a partir das safras 2001/2002, tornaram-se essenciais as aplicações de fungicidas na cultura, o que antes era raramente necessário. Os fungicidas aplicados não controlam apenas *P. pachyrhizi*, mas também inibem a ação de fungos entomopatogênicos como *Metarhizium rileyi* (Farlow) Samson, *Pandora* sp. Humber e *Zoophthora* sp. Batko, os quais eram responsáveis por manter a população de *C. includens* em baixos níveis populacionais (SOSA-GOMÉZ et al., 2003). Esse foi um evento que mudou acentuadamente o manejo da cultura, pois as pulverizações com fungicidas passaram a fazer parte do manejo fitossanitário da cultura, e, com a obrigação destas aplicações preventivas, o agricultor passou a fazer misturas em tanque de fungicida com inseticida, mesmo sem observar a necessidade real de aplicação de inseticidas, como uma medida profilática (HENRY; JOHNSON; WISE, 2011; BUENO et al., 2021).

O controle das pragas desfolhadoras é realizado primariamente pela aplicação de inseticidas químicos, e estes apresentam diferentes resultados para as duas espécies. A lagarta-da-soja é de fácil controle, pois possui o hábito de se alimentar no terço superior da planta, enquanto *C. includens* localiza-se nos terços médios e inferior, de preferência na face abaxial da folha dificultando a ação dos inseticidas (BERNARDI et al., 2012). Além disso, *C. includens* apresenta maior tolerância a inseticidas em comparação a *A. gemmatalis* (SOSA-GÓMEZ; OMOTO, 2012).

Com a expansão da cultura da soja no território nacional, a quantidade de inseticidas aplicados em lavouras de soja aumentou 3,3 vezes em relação à área colhida que aumentou 2,9 vezes no período entre 1990 até meados de 2012, tendo esta alteração no cenário de pragas um impacto direto no aumento da utilização de inseticidas na cultura (POZEBON et al., 2020).

A partir de 2013, com a detecção de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), até então considerada espécie quarentenária A1 no país (CZEPAK et al., 2013; SPECHT et al., 2013), houve um aumento na preocupação por parte dos produtores e das autoridades fitossanitárias, pois esta espécie é considerada uma das mais sérias pragas agrícolas no mundo (LEITE et al., 2014). É um inseto de difícil controle, pois apresenta uma rápida evolução da resistência aos inseticidas convencionais e uma alta tolerância a inseticidas em comparação às espécies nativas de lepidópteros (DURIGAN et al., 2017). Nesse mesmo período, a comercialização da primeira soja geneticamente modificada que expressa o gene Cry1Ac proveniente da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) foi liberada para os produtores (Intacta RR2 Pro[®]). O evento MON 87701 X MON 89788, além de expressar a proteína Cry1Ac que tem como insetos-alvo *A. gemmatalis* e *C. includens*, também possui o gene cp4 epsps, originário da bactéria *Agrobacterium tumefaciens*, que confere tolerância ao herbicida glifosato (CTNBio, 2010).

O cultivo de plantas que expressam toxinas de *B. thuringiensis* diminuiu consideravelmente a aplicação de inseticidas químicos destinados ao controle das pragas-alvo, gerando benefícios ecológicos para os agroecossistemas, principalmente para as populações de inimigos naturais (ROMEIS et al., 2019; BUENO et al., 2021). Desde que *H. armigera* foi detectada no Brasil, inicialmente houve um aumento na frequência e nas dosagens das pulverizações com inseticidas. No entanto, devido à supressão da soja Bt no controle dessa espécie (DOURADO et al., 2016), houve uma rápida adoção desta tecnologia (DURIGAN et al., 2017; BUENO et al., 2021), e conseqüentemente uma considerável diminuição no uso de inseticidas para o controle de *H. armigera* (POZEBON et al., 2020). Atualmente, o Brasil é um dos países que mais adotam essa tecnologia; na safra 2017/2018, aproximadamente 62% da área plantada com soja foi semeada com cultivares transgênicas resistentes ao ataque de insetos (CIB, 2018). A soja Bt é eficiente no controle das pragas-chave da cultura como *A. gemmatalis* e *C. includens* (BERNARDI et al., 2012), entretanto, espécies não-alvo da tecnologia podem ocupar o nicho deixado pelas pragas primárias (CATARINO et al., 2015). Esse processo ocorreu com as espécies do complexo *Spodoptera* Gueneé (Lepidoptera: Noctuidae), que ganharam destaque nos últimos anos devido ao aumento na sua ocorrência em soja Bt (BUENO et al., 2010; BORTOLOTTI et al., 2015). Isso se deve ao fato que espécies desse complexo

apresentam tolerância natural a proteínas Bt (LUTTRELL; WAN; KNIGHTEN, 1999; BERNARDI et al. 2014). Destacam-se as espécies *Spodoptera cosmioides* (Walker), *Spodoptera eridania* (Stoll) e *Spodoptera frugiperda* (Smith) pois além de se alimentarem das folhas também podem ocasionar danos nas vagens (HOFFMANN-CAMPO et al., 2000; MOSCARDI et al., 2011). Além disso, *S. cosmioides* pode ingerir o dobro do consumo de *A. gemmatalis* (BUENO et al., 2011). Mais recentemente, a primeira ocorrência de *Peridroma saucia* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) se alimentando de soja Bt e soja transgênica tolerante ao herbicida glifosato (TAKAHASHI et al., 2019) comprova a mudança na dinâmica de pragas que ocorre com a adoção da soja transgênica que expressa Cry1A.

2.2 CONTROLE BIOLÓGICO APLICADO EM INSETOS DESFOLHADORES NA CULTURA DA SOJA

Apesar do Brasil ser líder em agricultura tropical, e da expressiva biodiversidade encontrada nos biomas do país, inúmeros entraves dificultam o aumento no uso aplicado do controle biológico (CB) como ferramenta de combate a insetos-praga (PARRA, 2014). A cultura da soja foi modelo no uso de CB nas décadas de 1980 e 1990 com o uso do vírus AgMNPV, *Baculovirus anticarsia*, para o controle de *A. gemmatalis* (PARRA & COELHO JUNIOR 2018). O programa atingiu o ápice no final da década de 1990, quando biofábricas produziam o vírus em larga escala, para a aplicação em mais de 2 milhões de hectares de soja (MOSCARDI, 1999; MOSCARDI et al., 2011), tornando-se naquela ocasião, o maior programa de controle biológico no mundo (SIMONATO et al., 2014). No entanto, com a mudança no cenário de pragas primárias e secundárias na cultura, e a alta especificidade do AgMNPV atuando com eficácia apenas em *A. gemmatalis*, o uso deste agente foi reduzindo gradativamente (BUENO et al., 2012). A ascensão de *C. includens* como praga primária (SOSA-GÓMEZ et al., 2003) voltou a estimular a utilização de inseticidas neurotóxicos para o controle de lagartas (BUENO et al., 2012), e a exemplo do período de 1940-1960 conhecido como “Idade das trevas” quando o uso de inseticidas sintéticos era a principal ferramenta para o manejo de insetos-praga (KOGAN, 1998), estes voltaram a ser o principal método para manter as populações de *A. gemmatalis* e *C. includens* abaixo do nível de dano.

Além da utilização de *B. anticarsia*, o uso de parasitoides de ovos do gênero *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle de lagartas desfolhadoras foi alvo de estudos ao longo dos anos (ZACHRISSON; PARRA, 1998; BUENO; PARRA, BUENO, 2012a; CARVALHO et al., 2017), e diferentes espécies e/ou linhagens

demonstraram excelentes resultados no controle de *A. gemmatalis* (FOERSTER; FOERSTER, 2009, FOERSTER; MARCHIORO; FOERSTER, 2014, 2015) e *C. includens* (BUENO et al., 2009; BUENO; PARRA; BUENO, 2009, 2012b).

Seis espécies de *Trichogramma* foram registradas de ocorrência natural em ovos de *A. gemmatalis* em lavouras de soja. Foerster e Avanci (1999) coletaram *Trichogramma pretiosum* Riley, *Trichogramma rojasi* Nagaraja & Nagarkatti e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner. Posteriormente, Avanci, Foerster e Cañete (2005) encontraram *Trichogramma acacioi* Brun, Moraes & Soares e *Trichogramma lasallei* Pinto, e mais recentemente, Dudczak et al. (2017), acrescentaram a ocorrência de *Trichogramma bruni* Nagaraja em ovos da lagarta da soja. Além desses parasitoides, também foram encontrados *Encarsia porteri* (Mercet) (Hymenoptera: Aphelinidae) espécie não citada anteriormente parasitando ovos de *A. gemmatalis* (AVANCI; FOERSTER; CAÑETE, 2005), e *Telenomus cyamophylax* Polaszek (Hymenoptera: Platygastriidae), uma nova espécie descrita por Polaszek e Foerster (1997).

A partir de 2013, com a detecção de *H. armigera* nas lavouras do país e em decorrência dessa espécie apresentar resistência a inseticidas de diferentes ingredientes ativos em vários países (TORRES-VILA et al., 2002; AGGARWAL; BRAR, 2006; YANG; LI; WU, 2013; HUSSAIN et al., 2015), e da ausência de produtos químicos registrados para o uso, a utilização de *T. pretiosum* para o controle dessa espécie-praga ganhou destaque (PARRA; COELHO JUNIOR, 2018). As liberações para o controle de *H. armigera* ocorreram em aproximadamente 800 mil ha em 2014, porém com o registro de novas moléculas químicas, as áreas com liberações de *T. pretiosum* diminuíram para menos de 200 mil ha (PINTO; BUENO, 2019). No entanto, esse número poderia ter sido superior se o número de biofábricas existentes no país fosse suficiente para suprir a alta demanda desses agentes de controle biológico aos produtores (PARRA; COELHO JUNIOR, 2018). Porém, tal evento colaborou para reiterar a importância do CB estar integrado nas táticas de manejo de pragas (PINTO; BUENO, 2019).

A entrada de *H. armigera* no Brasil coincidiu com o lançamento comercial da primeira soja geneticamente modificada resistente ao ataque de insetos-alvo, que foi liberada aos produtores nas safras de 2013/2014 (BROOKES, 2018). A aceitação dessa tecnologia alterou novamente o manejo de insetos-praga na cultura da soja, e, uma vez que a soja Bt que expressa a toxina Cry1Ac demonstrou um alto controle de *A. gemmatalis*, *C. includens* (BERNARDI et al., 2021) e supressão de *H. armigera* (DOURADO et al., 2016), esta passou a ser a principal ferramenta de controle de pragas primárias na cultura (BUENO et al., 2021). Porém, essa tecnologia não deve ser considerada como a única solução no controle de insetos-praga, pois o

uso de uma ferramenta isolada raramente é suficiente e, ademais, diminui o tempo de vida útil das introduções transgênicas (KOS et al., 2009).

O uso de plantas transgênicas que expressam as toxinas de *B. thuringiensis* pode ser vantajoso para o CB, pois permite uma diminuição substancial na utilização de inseticidas químicos, favorecendo a conservação dos inimigos naturais (ROMEIS et al. 2019; BUENO et al., 2021). Os problemas com o surgimento de pragas secundárias são constantemente reportados em lavouras com o uso extensivo de tecnologia Bt (ZHAO et al., 2010; CATARINO et al., 2015), e além disso, há a preocupação com o ataque de insetos resistentes às toxinas Bt (TABASHNIK et al., 2008; TABASHNIK et al., 2013; OMOTO et al., 2016; HORIKOSHI et al., 2016; MACHADO et al., 2020). Espécies do complexo *Spodoptera* se encaixam nessas duas condições, e o uso de inimigos naturais juntamente com o plantio da área de refúgio são as principais alternativas para retardar a evolução da resistência às toxinas Bt e impactar positivamente no manejo integrado de pragas em culturas Bt (LIU et al. 2014, ROMEIS et al. 2019).

O parasitoide de ovos *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) é uma espécie que apresenta potencial expressivo para o controle de espécies-pragas do gênero *Spodoptera* (BUENO et al., 2010; POMARI et al., 2012; POMARI et al., 2013; BORTOLOTTI et al., 2014). No entanto, apesar das tentativas de estabelecimento desse parasitoide em campo, até então não havia referências à sua recaptura (NARANJO-GUEVARA et al., 2018).

As extensas áreas atualmente cultivadas com transgênicos e a falta de conhecimento sobre a ocorrência de inimigos naturais nesses cultivos são entraves para a expansão do controle biológico no Brasil (PARRA 2014, PARRA & COELHO Junior 2018).

2.3 INTERAÇÃO DE PLANTAS Bt E PARASITÓIDES

O efeito de proteínas Bt em inimigos naturais vem sendo estudado ao longo dos anos (ROMEIS et al., 2006; WOLFENBARGER et al., 2008; NARANJO, 2009; ROMEIS et al., 2019). A determinação do impacto de proteínas Cry em insetos não-alvo é um componente essencial na avaliação do risco desta tecnologia, e deve ser conduzido antes da comercialização da cultura transgênica (ANDOW; HILBECK, 2004; RAMIREZ-ROMERO et al., 2007; ROMEIS et al., 2011). Os insetos não-alvo avaliados compõem diferentes funções no agroecossistema, como polinizadores, parasitoides, predadores, decompositores, além dos herbívoros em geral (ROMEIS et al., 2008).

Os agentes de controle biológico podem ser expostos às toxinas Bt de forma direta (relação bitrófica), quando entram em contato com a proteína através do consumo de plantas ou de produtos relacionados à planta, como néctar e pólen (GROOT; DICKE, 2002; DE BORTOLI et al., 2017). Ou de forma indireta (relação tritrófica), através da alimentação e desenvolvimento em herbívoros que consumiram plantas Bt, ou ainda pelo consumo de *honeydew* (LIU et al., 2005; FARIA et al., 2006; DE BORTOLI et al., 2017; TIAN et al., 2018).

Erroneamente, diversos estudos atribuíram efeitos negativos na biologia de parasitoides a proteínas Bt (VOJTECH; MEISSLE; POPPY, 2005; LÖVEI et al., 2009). Posteriormente tais estudos foram questionados em razão da possibilidade dos resultados serem decorrentes de um efeito mediado pela qualidade nutricional do hospedeiro, e não pelo efeito das toxinas Bt (ROMEIS et al., 2006). De forma geral, os parasitoides são mais sensíveis às mudanças dos hospedeiros do que os predadores, pois estes geralmente são generalistas e se alimentam de um grande número de presas durante sua vida, enquanto os parasitoides completam seu ciclo em um único hospedeiro (VOJTECH; MEISSLE; POPPY, 2005; CHEN et al., 2008). Uma vez que o hospedeiro é suscetível a uma proteína Bt e se alimenta dessa proteína, o indivíduo que irá se desenvolver nesse inseto pode sofrer com um efeito letal ou efeitos subletais decorrentes da qualidade do hospedeiro; portanto este efeito dependerá do grau em que o hospedeiro foi impactado (LU et al., 2015). Vojtech; Meissle e Poppy (2005) avaliaram o desenvolvimento de *Cotesia marginiventris* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae) em lagartas de *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) suscetíveis ao milho Bt que expressa a toxina Cry1Ab, e constataram que o parasitoide não conseguiu completar o desenvolvimento neste hospedeiro. A morte precoce do parasitoide ocorreu em razão da baixa qualidade do hospedeiro avaliado devido à sua suscetibilidade à proteína testada. Em outro estudo com *C. marginiventris* em milho Bt (Cry1Ab) em uma população suscetível de *S. frugiperda*, os efeitos foram mediados pela qualidade do hospedeiro que influenciaram a biologia do parasitoide (RAMIREZ-ROMERO et al., 2007). Baur e Boethel (2003) também avaliaram o desenvolvimento de *C. marginiventris* em uma população de *C. includens* moderadamente afetada por algodão Bt com a expressão da proteína Cry1Ac; que causou um prolongamento no tempo de desenvolvimento larval e nos adultos houve redução na longevidade e diminuição na quantidade de ovos por fêmea.

Para eliminar o efeito da qualidade do hospedeiro em ensaios que avaliam o efeito de proteínas Bt em insetos não-alvo, deve-se utilizar um hospedeiro que seja resistente à proteína avaliada (ROMEIS et al., 2011). Essa metodologia tem se mostrando eficaz em acessar o real impacto de proteínas Bt em parasitoides; *C. marginiventris*, previamente estudada em

hospedeiros suscetíveis, foi avaliada em uma população de *S. frugiperda* resistente à proteína Cry1F por cinco gerações consecutivas. Além dos parâmetros biológicos, foi realizada a análise de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) e não foram constatados impactos de Cry1F no terceiro nível trófico (TIAN et al., 2013). Da mesma forma, nenhum efeito adverso foi constatado no parasitoide ovo-larval *Copidosoma floridanum* (Ashmead) (Hymenoptera: Encyrtidae) desenvolvendo-se em uma população de *Trichoplusia ni* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) resistente a Cry1Ac e Cry2Ab em algodão, quando alimentada com essas proteínas (TIAN et al., 2018).

Além dessas possibilidades, os agentes de controle biológico podem ser afetados pelas mudanças ocasionadas pelas plantas Bt nas diferentes cadeias alimentares, principalmente pela alteração na disponibilidade e na densidade de hospedeiros em lavouras Bt, que geralmente é reduzida em comparação com lavouras convencionais. Lu et al. (2015) verificaram que a abundância de parasitoides das famílias Braconidae, Ichneumonidae, Pteromalidae e Eurytomidae foi menor em lavoura de arroz com a expressão das proteínas Cry1Ab/Vip3H em comparação com o controle não-Bt, e apesar destas proteínas exercerem uma leve influência nas comunidades de artrópodes avaliada no geral, a diferença na abundância dos parasitoides é uma consequência não intencional (efeito indireto) na flutuação e alteração na disponibilidade de hospedeiros na área Bt.

Dively (2005) comparou a abundância e diversidade de táxons durante três anos em plantas de milho que expressam o evento piramidado VIP3A/Cry1Ab, que visa o controle de *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae), com a isolinhagem tratada com e sem inseticida. No geral não foi observado efeito tritrófico direto nos insetos benéficos não-alvo. Mudanças foram observadas em alguns táxons nas áreas Bt, no entanto foram devidas a fatores de impacto indireto como a diminuição da disponibilidade de hospedeiros, com maiores perturbações na comunidade de insetos na área onde foram aplicados inseticidas piretroides. A ausência de diferenças estatísticas nos parasitoides de ovos amostrados pode ser devido a estes utilizarem uma alta gama de hospedeiros não-alvo da tecnologia em si, e também pelo fato da densidade de ovos de *O. nubilalis* não ser diferente entre lavouras de milho Bt e convencionais (DIVELY, 2005)

Estudos de campo com duas cultivares de arroz Bt (Cry1C e Cry2A) e um controle convencional foram conduzidos durante dois anos, a fim de investigar o possível impacto das cultivares na comunidade de artrópodes. Não houve diferenças nos índices de comunidade e dominância das guildas em função do tipo da cultivar avaliada. No entanto, a densidade de parasitoides na cultivar Bt foi inferior em comparação ao controle, e este resultado foi atribuído

à menor abundância de hospedeiros na área (LU et al., 2014). Em um estudo similar, Resende et al. (2016) avaliaram a biodiversidade de insetos em sete lavouras com diversas proteínas Bt em relação a lavouras controle não-Bt, porém com aplicação de inseticidas quando necessário. Os autores concluíram que a variação na riqueza de inimigos naturais não poderia ser atribuída ao efeito das proteínas Bt, uma vez que em muitos casos, a riqueza em lavouras convencionais foi menor do que em lavouras Bt, devido ao fato dessas lavouras terem sido submetidas a aplicações de inseticidas de amplo espectro. A influência do evento pirimidado Cry1Ac/Cry1F na comunidade de insetos na cultura da soja foi registrado por Marques et al. (2018) durante três anos em diferentes localidades. Os autores concluíram que a abundância e a diversidade de espécies que compõem a comunidade de insetos da cultura não foram afetadas pelo cultivo de soja que expressa essas proteínas.

Apesar dos estudos realizados, a continuidade de pesquisas que envolvam o tema é essencial, uma vez que os fatores bióticos e abióticos que atuam na dinâmica populacional de insetos desfolhadores e carnívoros necessitam ser compreendidos para o aperfeiçoamento do manejo integrado em culturas Bt.

REFERÊNCIAS

- AGGARWAL, N.; BRAR, D.S.; BASEDOW, T. Insecticide resistance management of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) and its effect on pests and yield of cotton in north india. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v.113, p.120-127, 2006.
- ANDERSON, J.A.; ELLSWORTH, P.C.; FARIA, J.C.; HEAD, G.P.; OWEN, M.D.K.; PILCHER, C.D.; SHELTON, A.M.; MEISSE, M. Genetically engineered crops: importance of diversified integrated pest management for agricultural sustainability. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, doi:10.3389/fbioe.2019.00024, 2019.
- ANDOW, D.A.; HILBECK, A. Science-based risk assessment for nontarget effects of transgenic crops. **Bioscience**, v.54, p. 637-649, 2004.
- AVANCI, M.R.F.; FOERSTER, L.A.; CAÑETE, C.L. Natural parasitism in eggs of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera, Noctuidae) by *Trichogramma* spp. (Hymenoptera, Trichogrammatidae) in Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.49, p.148-151, 2005.
- BAUR, M.E.; BOETHEL, D.J. Effect of Bt-cotton expressing Cry1Ac(c) on the survival and fecundity of two hymenopteran parasitoids (Braconidae, Encyrtidae) in the laboratory. **Biological Control**, v.26, p.325-332, 2002.
- BERNAL, J.S. Genetically Modified Crops and Biological Control with Egg Parasitoids, p.443-465, in: CONSOLI, F.; PARRA, J.; ZUCCHI, R. Eds. **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on *Trichogramma***. Progress in biological control, Springer, Dordrecht, 2010.
- BERNARDI, O.; MALVESTITI, G.S.; DOURADO, P.M.; OLIVEIRA, W.S.; MARTINELLI, S.; BERGER, G.U.; HEAD, G.P.; OMOTO, C. Assessment of the high-dose concept and level of control provided by MON 87701 x MON 89788 soybean against *Anticarsia gemmatalis* and *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Pest Management Science**, v.68, p. 1083-1091, 2012.
- BERNARDI, O.; SORGATTO, R.J.; BARBOSA, A.D.; DOMINGUES, F.A.; DOURADO, P.M.; CARVALHO, R.A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G.P.; OMOTO, C. Low susceptibility of *Spodoptera cosmioides*, *Spodoptera eridania* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to genetically-modified soybean expressing Cry1Ac protein. **Crop Protection**, v.58, p.33-40, 2014.
- BORTOLOTTO, O.C.; SILVA, G.V.; BUENO, A.F.; POMARI, A.F.; MARTINELLI, S.; HEAD, G.P.; CARVALHO, R.A.; BARBOSA, G.C. Development and reproduction of *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) and its egg parasitoid *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) on the genetically modified soybean (Bt) MON 87701 x MON 89788. **Bulletin of Entomological Research**, v.104, p.724-730, 2014.
- BORTOLOTTO, O.C.; POMARI, A.F.; BUENO, R.C.O.F.; BUENO, A.F.; KRUIZ, Y.K.S.; QUEIROZ, A.P.; SANZOVO, A.; FERREIRA, R.B. The use of soybean integrated pest management in Brazil: a review. **Agronomy Science and Biotechnology**, v.1, p.25-32, 2015.
- BROOKES, G. The farm level economic and environmental contribution of Intacta soybeans in South America: the first years. **GM Crops & Food**, v.9, p. 140-151, 2018.

BUENO, A.F.; SOSA-GÓMEZ, D.R.; CORRÊA-FERREORA, B.S.; MOSCARDI, F.; BUENO, R.C.O.F. **Inimigos naturais das pragas da soja**. p. 493-629, *in*: HOFFMANN-CAMPO, SPALDING CORRÊA-FERREIRA, MOSCARDI, Eds. Manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. Embrapa, 2012. 859 p.

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

BUENO, R.C.O.F.; PARRA, J.R.P.; BUENO, A.D.; HADDAD, M.L. Performance of trichogrammatids as biological agents of *Pseudoplusia includens* Walker (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, v.38, p.389-394, 2009a.

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

BUENO, R.C.O.F.; CARNEIRO, T.R.; BUENO, A.F.; PRATISSOLI, D.; FERNANDES, O.A.; VIEIRA, S.S. Parasitism capacity of *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) on *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) eggs. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.53, p.133-139, 2010.

BUENO, R.C.O.F.; BUENO, A.F.; MOSCARDI, F.; PARRA, J.R.P. Lepidopteran larva consumption of soybean foliage: basis for developing multiple-species economic thresholds for pest management decisions. **Pest Management Science**, v.67, p.170-174, 2011.

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

BUENO, R.C.O.F.; PARRA, J.R.P.; BUENO, A.D. *Trichogramma pretiosum* parasitism of *Pseudoplusia includens* and *Anticarsia gemmatalis* eggs at diferente temperatures. **Biological Control**, v.60, p.154-162, 2012b.

CARVALHO, G.S.; SILVA, L.B.; REIS, S.S.; VERAS, M.S.; CARNEIRO, E.; ALMEIDA, M.L.S.; SILVA, A.F.; LOPES, G.N. Biological parameters and termal requirements of *Trichogramma pretiosum* reared on *Helicoverpa armigera* eggs. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.52, p.961-968, 2017.

CATARINO, R.; CEDDIA, G.; AREAL, F.J.; PARK, J. The impact of secondary pests on *Bacillus thuringiensis* (Bt) crops. **Plant Biotechnology Journal**, v.13, p.601-612, 2015.

CHEN, M.; ZHAO, J-Z.; COLLINS, H.L.; EARLE, E.D.; CAO, J.; SHELTON, A.M. A critical assessment of the effects of Bt transgenic plants on parasitoids. **Plos One**, v.3, e2284, 2008.

CIB. **Biotechnology Information Council. Economic and Socio-environmental Impacts of Insect Resistance Technology in Brazil: Historical Analysis, Perspectives and Future Challenges**. 2018. Disponível em:< <http://croplifebrasil.org/publicacoes/economic-and-socio-environmental-impacts-of-insect-resistance-technology-in-brazil/>> Acesso em: 15 Nov. 2020

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira grãos. Décimo segundo levantamento safra 2019/20.** Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos/item/download/33275_6780e71910d3f0d489c5f171231b65cd> Acesso em: 07 de Nov. 2020.

CORRÊA, B.S.; PANIZZI, A.R.; NEWMAN, G.G.; TURNIPSEED, S.G. Distribuição geográfica e abundância estacional dos principais insetos-pragas da soja e seus predadores. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.6, p. 40-50, 1977.

CTNBio. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. **Liberação Comercial de Soja Geneticamente Modificada Resistente a Insetos e Tolerante a Herbicida, Soja MON 87701 x MON 89788.** Parecer técnico nº2542/2010. Brasília, 2010.

CZEPAK, C.; ALBERNAZ, K.C.; VIVAN, L.M.; GUIMARÃES, H.O.; CARVALHAIS, T. Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.43. p.110-113, 2013.

De BORTOLI, S.A.; VACARI, A.M.; POLANCZYK, R.A.; VEIGA, A.C.P.; GOULART, R.M. **Effect of *Bacillus thuringiensis* on parasitoids and predators.** In: *Bacillus thuringiensis* and *Lysinibacillus sphaericus*: Characterization and use in the field of biocontrol. FIUZA, L.M.; POLANCZYK, R.A.; CRICKMORE, N. (Eds). Springer, Switzerland, p.67-78, 2017.

DIVELY, G.P. Impact of transgenic VIP3A x Cry1Ab lepidopteran-resistant field corn on the nontarget arthropod community. **Environmental Entomology**, v.34, p.1267-1291, 2005.

DOURADO, P.M.; BACALHAU, F.B.; AMADO, D.; CARVALHO, R.A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G.P.; OMOTO, C. High susceptibility to cry1Ac and low resistance allele frequency reduce the risk of resistance of *Helicoverpa armigera* to Bt soybean in Brazil. **Plos One**, doi:10.1371/journal.pone.0161388, 2016.

DUDCZAK, A.; QUERINO, R.B.; FOERSTER, M.R.; FOERSTER, L.A. First occurrence of *Trichogramma bruni* Nagaraja (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitizing eggs of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Erebidae) in Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 46, p.471-472, 2017.

DURIGAN, M.R.; CORRÊA, A.S.; PEREIRA, R.M.; LEITE, N.A.; AMADO, D.; SOUSA, D.R.; OMOTO, C. High frequency of CYP337B3 gene associated with control failures of *Helicoverpa armigera* with pyrethroid insecticides in Brazil. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.143, p. 73-80, 2017.

FARIA, M.F.; LUNDFREN, J.G.; FONTES, E.M.G.; FERNANDES, O.A.; SCHMIDT, F.; NGUYEN VAN TUAT; ANDOW, D.A. **Assessing the effects of Bt cotton on generalista arthropod predators.** In: HILBECK, A.; ANDOW, D.A.; FONTES, E.M.G. (Ed.) Environmental risk assessment of genetically modified organisms: methodologies for assessing Bt cotton in Brazil. Wallingford: CABI publishing, v.2, p.175-199, 2006.

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

FOERSTER, M.R.; FOERSTER, L.A. Effects of temperature on the immature development and emergence of five species of *Trichogramma*. **BioControl**, v.54, p.445-450, 2009.

FOERSTER, M.R.; MARCHIORO, C.A.; FOERSTER, L.A. Temperature-dependent parasitism, survival, and longevity of five species of *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) associated with *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, v.43, p.176-182, 2014.

FOERSTER, M.R.; MARCHIORO, C.A.; FOERSTER, L.A. How *Trichogramma* survives during soybean offseason in southern Brazil and the implications for its success as a biocontrol agent. **BioControl**, v.60, p.1-11, 2015.

GROOT, A.T.; DICKE, M. Insect-resistant transgenic plants in a multi-trophic context. **The Plant Journal**, v.31, p.387-406, 2002.

HENRY, R.S.; JOHNSON, W.G.; WISE, K.A. The impact of a fungicide and an insecticide on soybean growth, yield, and profitability. **Crop Protection**, v.30, p.1629-1634, 2011.

HOFFMANN-CAMPO, C.B.; MOSCARDI, F.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; OLIVEIRA, L.J.; SOSA-GÓMEZ, D.R.; PANIZZI, A.R.; CORSO, I.C.; GAZZONI, D.L.; OLIVEIRA, E.B. **Pragas de soja no Brasil e seu manejo integrado**. Londrina: Embrapa Soja, 2000, 70 p.

HORIKOSHI, R.J.; BERNARDI, D.; BERNARDI, O.; MALAQUIAS, J.B.; OKUMA, D.M.; MIRALDO, L.L.; AMARAL, F.S.A.; OMOTO, C. Effective dominance of resistance of *Spodoptera frugiperda* to Bt maize and cotton varieties: implications for resistance management. **Scientific reports**, v.6, 34864, doi:10.1038/srep34864, 2016.

HUSSAIN, D.; SALEEM, M.; GHOUSE, G.; ABBAS, M. Insecticide resistance in field populations of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Entomological Science**, 50, p.119–128, 2015.

KLÜMPER, W.; QAIM, M. A meta-analysis of the impacts of of genetically modified crops. **Plos One** v.9, e111629, doi: 10.1371/journal.pone.0111629, 2014.

KOGAN, M. Integrated pest management: historical perspectives and contemporary developments. **Annual Review of Entomology**, v.43, p.243-270, 1998.

KOS, M., van LOON, J.J.A., DICKE, M., VET, L.E.M. Transgenic plants as vital components of integrated pest management. **Trends in Biotechnology**, v.27, p.621-627, 2009.

LEITE, N.A.; ALVES-PEREIRA, A.; CORRÊA, A.S.; ZUCCHI, M.I.; OMOTO, C. Demographics and genetic variability of the new world bollworm (*Helicoverpa zea*) and the old world bollworm (*Helicoverpa armigera*) in Brazil. **Plos One**, v.9, 10.1371/journal.pone.0113286, 2014.

- LIU, X.; ZHANG, Q.; ZHAO, J.Z.; CAI, Q.; XU, H.; LI, J. Effects of the Cry1Ac toxin of *Bacillus thuringiensis* on *Microplitis mediator*, a parasitoid of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.144, p.205-213, 2005.
- LIU, X.; CHEN, M.; COLLINS, H.L.; ONSTAD, D.W.; ROUSH, R.T.; ZHANG, Q.; EARLE, E.D.; SHELTON, A.M. Natural enemies delay insect resistance to Bt crops. **Plos One**, v.9, e90366, doi:10.1371/journal.pone.0090366, 2014.
- LÖVEI, G.L.; ANDOW, D.A.; ARPAIA, S. Transgenic insecticidal crops and natural enemies: a detailed review of laboratory studies. **Environmental Entomology**, v.38, p.293–306, 2009.
- LU, Y.; WU, K.; JIANG, Y.; GUO, Y.; DESNEUX, N. Widespread adoption of Bt cotton and insecticide decrease promotes biocontrol services. **Nature**, 487, p. 362–365, 2012.
- LU, Z.B.; TIAN, J.C.; HAN, N.S.; HU, C.; PENG, Y.F.; STANLEY, D.; YE, G.Y. No direct effects of two transgenic Bt rice lines, T1C-19 and T2A-1, on the arthropod communities. **Environmental Entomology**, v.43, p.1453-1463, 2014.
- LU, Z.; DANG, C.; HAN, N.; SHEN, Z.; PENG, Y.; STANLEY, D.; YE, G. The new transgenic cry1Ab/vip3H rice poses no unexpected ecological risks to arthropod communities in rice agroecosystems. **Environmental Entomology**, p.1-8, doi: 10.1093/ee/nvv215, 2015.
- MACHADO, E.P.; RODRIGUES JUNIOR, G.L.S.; FÜHR, F.M.; ZAGO, S.L.; MARQUES, L.H.; SANTOS, A.C.; NOWATZKI, T.; DAHMER, M.L.; OMOTO, C.; BERNARDI, O. Cross-crop resistance of *Spodoptera frugiperda* selected on Bt maize to genetically-modified soybean expressing Cry1Ac and Cry1F proteins in Brazil. **Scientific Reports**, v.10. 10080, doi:10.1038/s41598-020-67339-1, 2020.
- MARQUES, L.H.; SANTOS, A.C.; CASTRO, B.A.; STORER, N.P.; BABCOCK, J.M.; LEPPING, M.D.; SA, V.; MOSCARDINI, V.F.; RULE, D.M.; FERNANDES, O.A. Impacto f transgenic soybean expresssing Cry1Ac and Cry1F proteins on the non-target arthropod community associated with soybean in Brazil. **Plos One**, v.13, doi: 10.1371/journal.pone.0191567, 2018.
- MONNERAT, R.; MARTINS, E.; MACEDO, C.; QUEIROZ, P.; PRAÇA, L.; SOARES, C.M.; MOREIRA, H.; GRISI, I.; SILVA, J.; SOBERON, M.; BRAVO, A. Evidence of field-evolved resistance of *Spodoptera frugiperda* to Bt corn expressing Cry1F in Brazil that is still sensitive to modified Bt toxins. **Plos One**, doi: /10.1371/journal.pone.0119544, 2015.
- MORAES, R.R.; LOECK, A.E.; BELARMINO, L.C. Flutuação populacional de Plusiinae e *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) em soja no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.26, p.51-56, 1991.
- MOSCARDI, F. Assessment of the application of baculoviruses for control of lepidoptera. **Annual Review of Entomology**, v.44, p. 257-289, 1999.
- MOSCARDI, F.; SOUZA, M. L. de; CASTRO, M. E. B. de; MOSCARDI, M. L.; SZEWCZYK, B. **Baculovirus pesticides: present state and future perspectives**. In: AHMAD, L.; AHMAD, F.; PICH- TEL, J. (Ed.). *Microbes and microbial technology agricultural and environmental applications*. London: Springer, 2011. p. 415-445.

MOSCARDI, F.; BUENO, A.F.; SOSA-GÓMEZ, D.R.; ROGGIA, S.; HOFFMANN-CAMPO, C.B.; POMARI, A.F.; CORSO, I.C.; YANO, S.A.C. **Artrópodes que atacam as folhas da soja**. In: HOFFMANN-CAMPO, SPALDING CORRÊA-FERREIRA, MOSCARDI, Eds. Manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. Embrapa, 2012, p. 213-334.

NARANJO, S.E. Impacts of Bt crops on non-target invertebrates and insecticide use patterns. **CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**, v.4, 2009.

NARANJO-GUEVARA, N.; SANTOS, L.A.O.; BARBOSA, N.C.C.P.; CORRÊA e CASTRO, A.C.M.; FERNANDES, O.A. Long-term mass rearing impacts performance of the egg parasitoid *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae). **Journal of Entomological Science**, v.55, p.69-86, 2018.

OERKE, E.C.; DEHNE, H.Q. Safeguarding production – losses in major crops and the role of crop protection. **Crop Protection**, v.23, p.275-285, 2004.

OLIVEIRA, C.M.; AUAD, A.M.; MENDES, S.M.; FRIZZAS, M.R. Crop losses and the economic impact of insect pest on Brazilian agriculture. **Crop Protection**, v.56, p.50-54, 2014.

OMOTO, C.; BERNARDI, O.; SALMERON, E.; SORGATTO, R.J.; DOURADO, P.M.; CRIVELLARI, A.; CARVALHO, R.A.; WILSE, A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G.P. Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. **Pest Management Science**, v.79, p. 1727-1736, 2016.

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

PARRA, J.R.P.; COELHO JUNIOR, A. Applied biological control in Brazil: from laboratory assays to field application. **Journal of Insect Science**, v.19, p.1-6, 2019.

PINTO, A.S.; BUENO, R.C.O.F. **Soybean**. In: SOUZA, B.; VÁZQUEZ, L.L.; MARUCCI, R.C. (Ed). Natural enemies of insect pests in neotropical agroecosystems. Springer, Switzerland, 2019, p.397-412.

POLASZEK, A.; FOERSTER, L.A. *Telenomus cyamophylax*, n. sp. (Hymenoptera: Scelionidae) attacking eggs of the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.26, p.177-181, 1997.

POMARI, A.F.; BUENO, A.F.; BUENO, R.C.O.F.; MENEZES JUNIOR, A.O. Biological characteristics and thermal requirements of the biological control agent *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) reared on eggs of different species of the genus *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v.105, p.73-81, 2012.

POMARI, A.F.; BUENO, A.F.; BUENO, R.C.O.F.; MENEZES JUNIOR, A.O. *Telenomus remus* Nixon egg parasitization of three species of *Spodoptera* under different temperatures. **Neotropical Entomology**, v.42, p.399-406, 2013.

POZEBON, H.; MARQUES, R.P.; PADILHA, G.; O'NEAL, M.; VALMORBIDA, I.; BEVILAQUA, J.G.; TEK TAY, W.; ARNEMANN, J.A. Arthropod invasions versus soybean production in Brazil: a review. **Journal of Economic Entomology**, v.113, p.1591-1608, 2020.

RAMIREZ-ROMERO, R.; BERNAL, J.S.; CHAUF AUX, J.; KAISER, L. Impact assessment of Bt-maize on a moth parasitoid, *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae), via host exposure to purified CryIab protein or Bt-plants. **Crop Protection**, v.26, p.953-962, 2007.

RESENDE, D.C.; MENDES, S.M.; MARUCCI, R.C.; SILVA, A.C.; CAMPANHA, M.M.; WAQUIL, J.M. Does Bt maize cultivation affect the non-target insect community in the agro ecosystem? **Revista Brasileira de Entomologia**, v.60, p.82-93, 2016.

ROMEIS, J.; MEISSLE, M.; BIGLER, F. Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. **Nature Biotechnology**, v.24, p. 63-71, 2006.

ROMEIS, J.; BARTSCH, D.; BIGLER, F.; CANDOLFI, M.P.; GIELKENS, M.M.C.; HARTLEY, S.E.; HELLMICH, R.L.; HUESING, J.E.; JEPSON, P.S.; LAYTON, R.; QUEMADA, H.; RAYBOULD, A.; ROSE, R.I.; SCHIEMANN, J.; SEARS, M.K.; SHELTON, A.M.; SWEET, J.; VAITUZIS, Z.; WOLT, J.D. Assessment of risk of insect-resistant transgenic crops to nontarget arthropods. **Nature Biotechnology**, v.26, p. 203-208, 2008.

ROMEIS, J.; HELLMICH, R.L.; CANDOLFI, M.P.; CARSTENS, K.; De SCHRIJVER, A.; GATEHOUSE, A.M.R.; HERMAN, R.A.; HUESING, J.E.; McLEAN, M.A.; RAYBOULD, A.; SHELTON, A.M.; WAGGONER, A. Recommendations for the design of laboratory studies on non-target arthropods for risk assessment of genetically engineered plants. **Transgenic Research**, v.20. p.1-22, 2011.

ROMEIS, J.; NARANJO, S.E.; MEISSLE, M.; SHELTON, A.M. Genetically engineered crops help support conservation biological control. **Biological Control**, v.130, p.136-154, 2019.

SHELTON, A.M.; ZHAO, J.Z.; ROUSH, R.T. Economic, ecological, food safety, and social consequences of the deployment of Bt transgenic plants. **Annual Review of Entomology**, v.47, p.845-881, 2002.

SIMONATO, J.; GRIGOLLI, J.F.J.; OLIVEIRA, H.N. **Controle biológico de insetos-praga na soja**. In: LOURENÇÃO, A. L. F.; GRIGOLLI, J. F. J.; MELOTTO, A. M.; PITOL, C.; GITTI, D. de C.; ROSCOE, R. (Ed.). Tecnologia e produção: Soja 2013/2014. Maracaju, MS: Fundação MS, 2014.

SOSA-GÓMEZ, D.R.; DELPIN, K.E.; MOSCARDI, F.; NOZAKI, M.H. The impact of fungicides on *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson epizootics and on populations of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), on soybean. **Neotropical Entomology**, v.32, p.287-291, 2003.

SOSA-GÓMEZ, D.R.; OMOTO, C. **Resistência a inseticidas e outros agentes de controle em artrópodes associados à cultura da soja**. In: HOFFMANN-CAMPO, SPALDING CORRÊA-FERREIRA, MOSCARDI, Eds. Manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. Embrapa, 2012, p. 673-723.

SPECHT, A.; SOSA-GÓMEZ, D.R.; PAULA-MORAES, S.V.; YANO, S.A.C. Identificação morfológica e molecular de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) e ampliação de seu registro de ocorrência no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.48, p.689-692, 2013.

TAKAHASHI, T.A.; NISHIMURA, G.; CARNEIRO, E.; FOERSTER, L.A. First record of *Peridroma saucia* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) in transgenic soybeans. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.63, p.199-201, 2019.

TABASHNIK, B.E.; GASSMANN, A.J.; CROWDER D.W.; CARRIÈRE, Y. Insect resistance to Bt crops: evidence versus theory. **Nature Biotechnology**, v. 26, p.199-202, doi: 10.1038/nbt1382, 2008.

TABASHNIK, B.E.; BRÉVAULT, T.; CARRIÈRE, Y. Insect resistance to Bt crops: lessons from the first billion acres. **Nature Biotechnology**, v.31, p.510-521, 2013.

TIAN, J-C.; WANG, X-P.; LONG, L-P.; ROMEIS, J.; NARANJO, S.E.; HELLMICH, R.L.; SHELTON, A.M. Eliminating host-mediated effects demonstrates Bt maize producing Cry1F has no adverse effects on the parasitoid *Cotesia marginiventris*. **Transgenic Research**, v.23, p.257-264, 2013.

TIAN, J-C.; WANG, X-P.; CHEN, Y.; ROMEIS, J.; NARANJO, S.E.; HELLMICH, R.L.; WANG, P.; SHELTON, A.M. Bt cotton producing Cry1Ac and Cry2Ab does not harm two parasitoids, *Cotesia marginiventris* and *Copidosoma floridanum*. **Scientific Reports**, 8:307, doi: 10.1038/s41598-017-18620-3, 2018.

TORRES-VILA, L.M.; RODRÍGUEZ-MOLINA, M.C.; LACASA-PLASENCIA, A.; BIELZA-LINO, P. Insecticide resistance of *Helicoverpa armigera* to endosulfan, carbamates and organophosphates: the Spanish case. **Crop Protection**, v.21, p.1003-1013, 2002.

VOJTECH, E.; MEISSLE, M.; POPPY, G.M. Effects of Bt maize on the herbivore *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) and the parasitoid *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae). **Transgenic Research**, v.14, p.133-144, 2005.

YANG, Y.; LI, Y.; WU, Y. Current status of insecticide resistance in *Helicoverpa armigera* after 15 years of Bt cotton planting in China. **Journal of Economic Entomology**, v.106, p.375-381, 2013.

WOLFENBARGER, L.L.; NARANJO, S.E.; LUNDGREN, J.G.; BITZER, R.J.; WATRUD, L.S. Bt crop effects on functional guilds of non-target arthropods: a meta-analysis. **Plos One**, v.3. e2118, doi: 10.1371/journal.pone.0002118, 2008.

ZACHRISSON, B.A.; PARRA, J.R.P. Capacidade de dispersão de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 para o controle de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 em soja. **Scientia Agricola**, v.55, p.133-137, 1998.

ZHAO, J. H.; HO, P.; AZADI, H. Benefits of Bt cotton counterbalanced by secondary pests? Perceptions of ecological change in China. **Environmental Monitoring and Assessment**, v.173, p. 985-994, 2010.

3 CAPÍTULO I – A CONTRIBUIÇÃO DO PARASITISMO NATURAL NO CONTROLE DE LEPIDÓPTEROS EM SOJA Bt E NÃO-Bt: BIOPROSPECÇÃO DE PARASITOIDES LARVAIS

RESUMO

A soja transgênica que apresenta resistência ao ataque de insetos-alvo da cultura devido à expressão da proteína Cry1Ac oriunda da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) foi amplamente aceita pelos produtores agrícolas no Brasil. No entanto, as mudanças na dinâmica das espécies de lepidópteros-praga ocasionadas pela adoção da soja Bt ainda são alvo de estudos, uma vez que insetos naturalmente tolerantes ou resistentes a esta toxina podem ocasionar danos expressivos na cultura, tornando-se pragas primárias em plantas Bt. Assim, faz-se necessário associar outras ferramentas, como o controle biológico, para o manejo desses insetos. Através da bioprospecção, agentes de controle biológico com potencial de controle destes lepidópteros podem ser selecionados e utilizados no seu manejo. O objetivo desse capítulo foi identificar os parasitoides larvais nos hospedeiros associados a soja Bt e não-Bt, assim como verificar a influência dos fatores bióticos e abióticos na ocorrência de lagartas e seus parasitoides. O estudo foi realizado em duas áreas de cultura de soja (Bt e não-Bt) no município de São José dos Pinhais (25°36'49"S, 49°08'01"W), Paraná, entre os meses de janeiro e março, nas safras de 2017/2018 e 2018/2019. As lagartas foram coletadas pelo método do pano-de-batida em 10 pontos aleatórios de cada área; cada indivíduo era individualizado em potes de polietileno e recebiam folhas de soja da área onde foram coletados, durante todo o estágio larval. Os indivíduos que atingiam a fase adulta foram mortos e montados para identificação, assim como os parasitoides que emergiam de cada hospedeiro. No total 3.073 lagartas foram coletadas na soja não-Bt, sendo identificadas 11 espécies, com predominância do complexo *Plusiinae* (Lepidoptera: Noctuidae). Na área Bt 295 lagartas foram coletadas, sendo identificadas quatro espécies de noctuídeos: *Spodoptera cosmioides* (Walker), *Spodoptera eridania* (Stoll), *Spodoptera frugiperda* (Smith) e *Peridroma saucia* (Hübner). A média do parasitismo natural na área não-Bt foi próximo a 25%, enquanto na área Bt foi de 22%. Três famílias de parasitoides; Braconidae e Ichneumonidae (Hymenoptera) e Tachinidae (Diptera), ocorreram em ambas as áreas, enquanto os himenópteros da família Encyrtidae parasitaram apenas hospedeiros da área não-Bt e os da família Eulophidae apenas hospedeiros da área Bt. Com exceção dos exemplares de Tachinidae, os espécimes seguem no processo de identificação ao nível de espécie. Uma nova espécie de endoparasitoide larval solitário do gênero *Aleiodes* Wesmael (Hymenoptera: Braconidae) foi encontrada e os primeiros resultados indicam possuir um grande potencial no controle de *Spodoptera* spp. tanto em soja Bt, quanto convencional não-Bt. O controle biológico natural deve ser considerado e incentivado como o principal método de controle de lepidópteros naturalmente tolerantes e/ou resistentes às toxinas Bt, juntamente com o plantio da área de refúgio, pois tornam o manejo de insetos-praga mais robusto e sustentável.

Palavras-chave: controle biológico natural, *Spodoptera*, *Aleiodes*.

ABSTRACT

Transgenic soybean resistant to attack by target insects due to the expression of the Cry1Ac protein from *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) has been widely accepted by agricultural producers in Brazil. However, changes in the dynamics of pest species of lepidopterans caused by the adoption of Bt soybeans are still under investigation, since insects naturally tolerant or resistant to this toxin may cause significant damage in the crop and become primary pests in Bt plants. Therefore, it is necessary to use other tools, such as biological control, for the management of these insects. Through bioprospection, biological control agents with potential for use against these species can be selected and employed for their management. The purpose of this chapter was to identify larval parasitoids and their hosts associated with Bt and non-Bt soybeans, as well as to verify the influence of biotic and abiotic factors on the occurrence of caterpillars and their parasitoids. The study was carried out in two areas (Bt and non-Bt) in the municipality of São José dos Pinhais (25°36'49"S, 49°08'01"W), in the state of Paraná, Brazil, between January and March in the 2017/2018 and 2018/2019 crops. The caterpillars were collected by the shake-cloth method at 10 random points in each area; each individual was individualized in polyethylene pots and received soybean leaves from the area where they were collected, throughout the larval stage. As they reached the adult stage, specimens were killed and mounted for identification, as well as the parasitoids that emerged from each host. A total of 3,073 caterpillars were collected in the non-Bt area, with 11 different species identified, mainly of the Plusiinae complex (Lepidoptera: Noctuidae). In the Bt area, 295 caterpillars were collected, of four noctuids: *Spodoptera cosmioides* (Walker), *Spodoptera eridania* (Stoll), *Spodoptera frugiperda* (Smith) and *Peridroma saucia* (Hübner). The mean natural parasitism in the non-Bt area was close to 25%, while in the Bt area was 22%. Three families of parasitoids; Braconidae and Ichneumonidae (Hymenoptera) and Tachinidae (Diptera), occurred in both areas, while the hymenopterans of the family Encyrtidae parasitized only hosts in the non-Bt area, and Eulophidae was recorded only in hosts from the Bt area. With the exception of individuals in the Tachinidae family, specimens continue in the process of species-level identification. A new species of solitary larval endoparasitoid of the genus *Aleiodes* Wesmael (Hymenoptera: Braconidae) was found, and preliminary results indicate that it has a great potential for the control of *Spodoptera* spp., both in Bt and conventional non-Bt soybeans. Natural biological control should be considered and encouraged as the main method of controlling naturally tolerant and/or resistant Lepidoptera to Bt toxins, associated with the planting of the refuge area, as they make insect pest management more robust and sustainable.

Keywords: natural biological control, *Spodoptera*, *Aleiodes*.

1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é a principal cultura de importância econômica no Brasil, sendo destinados 36,950 milhões de hectares ao plantio dessa oleaginosa. Durante a safra 2019/2020, foram produzidas 124,845 milhões de toneladas, tornando o Brasil o maior produtor deste grão (CONAB, 2020). Devido à extensão de cultivo e ao clima tropical, um dos maiores desafios nessa cultura é o controle de insetos-praga que afetam diretamente a produtividade (CATTELAN; DALL'AGNOL, 2018) os quais ocorrem desde a semeadura até a colheita, destacando-se o ataque de lagartas desfolhadoras (HOFFMAN-CAMPO et al., 2000).

A adoção de cultivos transgênicos Bt tem trazido benefícios econômicos e ambientais através da redução do uso de inseticidas; no entanto, parte destes benefícios têm sido prejudicados devido a surtos de pragas secundárias ou não-alvo, que demandam o uso de inseticidas sintéticos (CATARINO et al., 2015). Plantas de soja geneticamente modificadas que expressam a proteína Cry1Ac derivada da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt), controlam com eficiência as lagartas consideradas pragas-chave da cultura *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Erebidae) e *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) (BERNARDI et al., 2012). No entanto, tem pouca ou nenhuma ação em lagartas do complexo *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae) (BERNARDI et al., 2014). Espécies desse gênero, e mais recentemente *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) são responsáveis por surtos secundários com danos significativos dependendo da região e safra de ocorrência (SPECHT et al., 2013; DOURADO et al., 2016; CONTE et al., 2019).

Isto ocorre devido às espécies desse gênero apresentarem uma tolerância natural a determinadas toxinas do Bt (LUTTRELL; WAN; KNIGHTEN, 1999; BERNARDI et al., 2014), tornando-as não-alvo desta tecnologia. Assim, como esperado, a adoção da tecnologia Bt na cultura da soja ocasionou uma mudança na dinâmica das espécies de insetos-praga (YU et al., 2014; CATARINO et al., 2015). Em decorrência do controle das pragas primárias, o nicho ecológico deixado pelas pragas-alvo da soja Bt, passou a ser ocupado por espécies secundárias não-alvo desta tecnologia, ascendendo de *status* neste novo cenário (CATARINO et al., 2015). Assim, é necessário o uso de outras táticas no manejo desses insetos; o controle biológico é favorecido com o uso de plantas Bt, devido à diminuição nas aplicações de inseticidas e permitindo a sobrevivência de predadores e parasitoides (LU et al., 2012).

No entanto, a maior parte dos estudos de inimigos naturais em culturas Bt, teve como objetivo primordialmente avaliar o impacto das proteínas Bt a espécies previamente

determinadas em condições de laboratório (ROMEIS et al., 2019). Pesquisas em campo sobre a ocorrência de parasitoides de lagartas em cultivos transgênicos são escassas no Brasil (FRIZZAS; OLIVEIRA; OMOTO, 2017, MARQUES et al., 2018), assim como em outros países (BOURGUET et al., 2002; WOLFENBARGER et al., 2008; YU et al., 2014).

O objetivo desse estudo foi verificar as espécies de parasitoides promissoras para o controle de lepidópteros naturalmente tolerantes e/ou resistentes a soja Bt, e, através do levantamento das espécies de lepidópteros, confirmar a mudança no cenário de pragas após a adoção da soja Bt, verificando também quais são as espécies de parasitoides que podem ocorrer em diferentes hospedeiros tanto em soja Bt quanto em soja não-Bt. Assim, objetivou-se avaliar os fatores bióticos e abióticos que influenciaram a ocorrência de lagartas e parasitoides nos dois anos de pesquisa.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O levantamento foi realizado em duas áreas de soja geneticamente modificadas no município de São José dos Pinhais (25°36'49"S, 49°08'01"W), Paraná, entre os meses de janeiro e março nas safras de 2017/2018 e 2018/2019. O entorno do local é formado por uma paisagem composta com fragmentos de floresta ombrófila mista, e o clima é classificado como Cfb – Temperado Oceânico pela classificação de Köppen (KOTTEK et al., 2006). A primeira área, denominada de área não-Bt, com aproximadamente 12 hectares e foi semeada durante as duas safras com sementes da cultivar NA5909RG que expressa tolerância ao herbicida glifosato - Roundup Ready®. A outra área, denominada de Bt, com cerca 14 hectares, foi semeada na primeira safra com a cultivar SYN13671 IPRO, e na segunda safra foi dividida em duas partes que foram semeadas as cultivares M5917 IPRO e SYN1561 IPRO. As três cultivares semeadas na área Bt expressam a proteína Cry1Ac de *B. thuringiensis* (Bt) que confere resistência ao ataque de lepidópteros-alvo da cultura e também tolerância ao herbicida glifosato. A semeadura nas duas áreas durante as duas safras ocorreu na mesma semana. As duas áreas, em linha reta, estão a 500 m de distância uma da outra.

As coletas iniciaram quando as plantas estavam no estágio vegetativo V6 (RITCHIE; HANWAY; THOMPSON, 1985). Semanalmente em 10 pontos aleatórios de cada área, era realizada a amostragem de lagartas por meio do método do pano-de-batida (SHEPARD et al., 1974), registrando-se o estágio de desenvolvimento da cultura. As lagartas eram coletadas e levadas ao laboratório onde eram individualizadas em potes de polietileno (4 x 7 cm), e classificadas como pequenas (< 1,5 cm) e grandes (> 1,5 cm), e recebiam folhas de soja oriundas do local de coleta. Diariamente os indivíduos eram observados em relação ao parasitismo e sobrevivência, e quando necessário, folhas adicionais eram fornecidas às lagartas.

Os dados de temperatura (°C) mínima, média e máxima, umidade relativa (%) e precipitação (mm) durante os meses avaliados nas safras, foram obtidos do Sistema Meteorológico do Paraná (SIMEPAR), localizado a aproximadamente 20 km do local de coleta.

2.1 MANEJO FITOSSANITÁRIO DA ÁREA

O manejo fitossanitário das duas áreas foi realizado pelos produtores, utilizando os fungicidas Elatus® (Azoxistrobina + Benzovindiflupir), Cypress 400 EC® (Difenoconazol + Ciproconazol) e Fox® (Trifloxistrobina + Protiocanazol). O controle de insetos-praga foi baseado na média de lagartas coletadas por pano-de-batida, seguindo as recomendações de 40

lagartas grandes (> 1,5 cm) por pano-de-batida, ou com desfolha de 30% antes da floração, e 15% após as primeiras flores (HOFFMAN-CAMPO et al., 2000; CORRÊA-FERREIRA, 2012). Na safra 2017/2018 na área não-Bt, o nível de controle foi atingido e uma pulverização com os inseticidas Ampligo[®] (lambda-cialotrina + clorantraniliprole) na dosagem de 75 mL/ha + Match[®] EC (lufenurom) na dosagem de 150 mL/ha, foi realizado no dia 21/02/2018. Na segunda safra, a média de lagartas aumentou expressivamente e uma aplicação de Ampligo[®] + Match[®] EC, nas mesmas doses supracitadas foi realizada no dia 08/02/2019; e outra no dia 22/02/2019 com Proclaim[®] 50 (benzoato de emamectina) na dose recomendada de 150 g/ha. Na área Bt, nenhuma aplicação foi realizada na primeira safra, e na safra 2018/2019 foi necessária uma aplicação de Galil[®] SC (imidacloprido + bifentrina) na dose de 400 mL/ha para o controle de percevejos.

2.2 IDENTIFICAÇÃO DOS HOSPEDEIROS E DOS PARASITOIDES

A identificação larval de espécies do complexo *Plusiinae*, em destaque a diferenciação de *C. includens* e *Rachiplusia nu* (Guenée), são difíceis de serem realizadas visualmente e consequentemente podem acarretar em identificações errôneas (MOSCARDI et al., 2012). Essas duas espécies podem ser separadas por algumas características morfológicas como os dentes da região interna da mandíbula das lagartas (BARRIONUEVO; SAN BLAS, 2016). Porém para realizar essa identificação a lagarta deve ser morta, o que inviabilizaria a constatação do parasitismo. Por isso, somente foram identificadas ao nível de espécie os indivíduos que atingiram a fase de pupa e apresentaram coloração verde clara (*C. includens*) ou marrom escura (*R. nu*); posteriormente os adultos foram confirmados e os demais indivíduos não identificados foram agrupados na subfamília *Plusiinae*. Todos os indivíduos que completaram o desenvolvimento larval e atingiram o estágio adulto foram mortos em freezer e montados para confirmação das espécies que foi realizada pelo Dr. Eduardo Carneiro da Universidade Federal do Paraná. Os parasitoides larvais foram armazenados em microtubos contendo álcool 70% e foram enviados para os taxônomos de Hymenoptera: Dr. Daniell Fernandes do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Dr. Eduardo Shimbori da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e Dr. Valmir Antonio Costa do Instituto Biológico. Os dípteros foram identificados pelo Dr. Ronaldo Toma da Fundação Oswaldo Cruz.

2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para avaliar a influência dos fatores bióticos e abióticos no número de lagartas coletadas, foram utilizados modelos lineares generalizados, com a distribuição gaussiana uma vez que os dados utilizados eram de distribuição contínua. Para a variável resposta lagartas parasitadas, somente as variáveis abióticas foram utilizadas como variáveis preditoras.

Foram construídos modelos globais, utilizando as variáveis abióticas: amplitude térmica (°C), precipitação (mm) e umidade relativa (%). Os dados utilizados foram referentes a média de cada variável climática em relação à semana da coleta. Os quatro primeiros modelos globais tiveram o número de lagartas coletadas, por área de coleta (Bt ou não-Bt) e safra de avaliação (2017/2018 e 2018/2019) como variável resposta, e os fatores abióticos mais o fator biótico (lagartas parasitadas) como variáveis preditoras. Outros quatro modelos globais foram construídos considerando o número de lagartas parasitadas por área de coleta (Bt ou não-Bt) e safra de avaliação (2017/2018 e 2018/2019) como variável resposta, e os fatores abióticos como variáveis preditoras. As aplicações de inseticidas foram adicionadas aos modelos globais como variável preditora nas safras onde foram necessárias.

Anterior à montagem dos modelos, foi analisada a correlação das variáveis através do teste de Pearson, sendo considerado valores maiores que 0,7 ou menores que - 0,7 como fator de multicolinearidade. Para corroborar com as observações de multicolinearidade foi utilizada a função vif (variance inflation fator) do pacote car (FOX; WEISBERG, 2018) que mede a proporção que uma variável é inflacionada pela presença de outra variável. Os resíduos dos modelos foram avaliados usando o pacote DHARMA (HARTING, 2020). Os modelos foram selecionados usando o critério de informação de Akaike corrigido (AICc), utilizando a função dredge do pacote MuMIn (BARTÓN, 2020); posteriormente foram selecionados os melhores modelos considerando os valores de delta $\Delta AICc$ menores que 4 (BURNHAM; ANDERSON, 2002). Os melhores modelos para cada variável resposta foram submetidos à análise de variância ($P < 0,05$). Os dados foram analisados no software R versão 3.6.1 (R CORE TEAM, 2019).

3 RESULTADOS

3.1 INFLUÊNCIA DOS FATORES BIÓTICOS E ABIÓTICOS NA INCIDÊNCIA DE LAGARTAS COLETADAS E PARASITADAS

Na safra 2017/2018 foram coletadas 1.530 lagartas, sendo 1.480 na área não-Bt (Tabela 1-A) e apenas 50 exemplares na área Bt (Tabela 2-A). O parasitismo natural na área não-Bt foi de 22,57% e a partir da análise do modelo simplificado (Tabela 3-A), as variáveis parasitismo larval ($F_{1,10} = 21,21$; $P = 0,001$) e a aplicação de inseticida ($F_{1,7} = 6,16$; $P = 0,038$), influenciaram fortemente a densidade de lagartas, enquanto a amplitude térmica não foi significativa ($F_{1,9} = 1,05$; $P = 0,335$) (Figura 2-A). O nível de controle chegou próximo ao recomendado para a tomada de decisão de aplicação de inseticidas entre a sétima e oitava coletas (Figura 1-A), correspondentes aos estágios reprodutivos R5.1-2 e R5.2-3 respectivamente, quando 65% das lagartas tinham $\geq 1,5$ cm, não atingindo a média de 40 lagartas por amostragem. Foi realizada a aplicação de Ampligo® + Match® EC, reduzindo em mais de 75% a densidade de lagartas na área não-Bt. O ápice do parasitismo ocorreu em R4 quando 37,5% das lagartas coletadas estavam parasitadas (Figura 1-A), porém o modelo simplificado que selecionou a variável umidade relativa (Figura 2-B) não foi estatisticamente significativo ($F_{1,10} = 1,32$; $P = 0,277$), não havendo um fator que tenha influenciado na densidade de parasitoides na área.

Na área Bt, o parasitismo natural foi de 28% (Tabela 2-A), sendo a única variável selecionada pelo modelo simplificado, e que apontou significância estatística ($F_{1,9} = 15,33$; $P = 0,003$), influenciando na quantidade de lagartas coletadas. Quando avaliada a influência das variáveis abióticas no parasitismo, apesar da simplificação do modelo, a precipitação ($F_{1,9} = 0,87$; $P = 0,377$) e a umidade relativa ($F_{1,8} = 2,48$; $P = 0,154$) não tiveram impacto na população de parasitoides (Figura 2 E-F).

TABELA 1 – NÚMERO DE LAGARTAS COLETADAS E PARASITADAS NA ÁREA COM SOJA NÃO-Bt, NO MUNICÍPIO DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS (25°36'49"S, 49°08'01"W), PR, DURANTE AS SAFRAS DE 2017/2018 (A) E 2018/2019 (B).

Espécie	A) Safra 2017/2018		B) Safra 2018/2019	
	Coletadas	Parasitadas	Coletadas	Parasitadas
<i>Anticarsia gemmatalis</i> Hübner	232 (15,68%)	29 (12,50%)	100 (6,28%)	10 (10%)
<i>Chrysodeixis includens</i> (Walker)	223 (15,07%)	53 (23,77%)	304 (19,08%)	35 (11,51%)
<i>Rachiplusia nu</i> (Guenée)	15 (1,01%)	3 (20,0%)	31 (1,95%)	1 (3,23%)
<i>Trichoplusia ni</i> (Hübner)	-	-	2 (0,13%)	-
Subfamília Plusiinae	832 (56,22%)	183 (21,99%)	995 (62,46%)	343 (34,47%)
<i>Peridroma saucia</i> (Hübner)	39 (2,64%)	10 (25,64%)	14 (0,88%)	5 (35,71%)
<i>Spodoptera cosmioides</i> (Walker)	19 (1,28%)	5 (26,32%)	29 (1,82%)	9 (31,03%)
<i>Spodoptera dolichos</i> (Fabricius)	2 (0,13%)	0	4 (0,25%)	2 (50%)
<i>Spodoptera eridania</i> (Stoll)	116 (7,84%)	51 (43,97%)	104 (6,53%)	19 (18,27%)
<i>Spodoptera frugiperda</i> (Smith)	2 (0,13%)	-	6 (0,38%)	-
<i>Elaphria deltoides</i> (Möschler)	-	-	2 (0,13%)	-
<i>Elaphria nucicolora</i> (Guenée)	-	-	2 (0,13%)	-
Total	1.480	334	1.593	424
	-	(22,57%)	-	(26,62%)

FONTE: O autor (2021).

Na safra de 2018/2019, foram coletadas 1.838 lagartas, das quais 1.593 foram provenientes da área não-Bt e 245 da área Bt (Tabela 1-B e 2-B). Nessa safra o parasitismo natural na área não-Bt foi de 26,62 %, apresentando um aumento de 17,94 % em relação à safra anterior, sendo a variável que afetou significativamente a densidade de lagartas coletadas ao longo das coletas ($F_{1,10} = 280,18$; $P = <0,001$). O nível de controle foi atingido na quinta semana de coleta, quando a soja estava no estágio R2-R3 (Figura 1-C), duas semanas antes em relação à safra 2017/2018, quando aproximadamente 55 % das lagartas coletadas tinham $\leq 1,5$ cm. No entanto, a aplicação dos inseticidas Ampligo® + Match® EC ocorreu apenas após a quinta

coleta (estágio reprodutivo R4) quando 86 % das lagartas tinham tamanho grande. Neste tratamento, o controle foi de 59 % após uma semana e de 69% após duas semanas da aplicação. Como a soja estava em um período de enchimento de grãos e a desfolha continuou alta, e por decisão dos produtores, foi realizada mais uma pulverização com Proclaim® 50 que controlou 100% das lagartas. Assim, estatisticamente a aplicação de inseticidas não influenciou a média de lagartas por pano-de-batida ($F_{1,9} = 3,13$; $P = 0,111$).

A simplificação do modelo para a flutuação populacional de parasitoides, tendo a variável umidade relativa (Figura 1–B) como resposta, não influenciou estatisticamente ($F_{1,10} = 2,18$; $P = 0,170$).

TABELA 2 - NÚMERO DE LAGARTAS COLETADAS E PARASITADAS NA ÁREA DE SOJA Bt, NO MUNICÍPIO DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS, PR (25°36'49"S, 49°08'01"W) DURANTE AS SAFRAS DE 2017/2018 (A) E 2018/2019 (B).

Indivíduos	A) Safra 2017/2018		B) Safra 2018/2019	
	Coletadas	Parasitadas	Coletadas	Parasitadas
<i>Spodoptera cosmioides</i> (Walker)	10 (20,0%)	4 (40,0%)	28 (11,43%)	6 (21,43%)
<i>Spodoptera eridania</i> (Stoll)	38 (76,0%)	9 (23,68%)	210 (85,71%)	34 (16,19%)
<i>Spodoptera frugiperda</i> (Smith)	1 (2,0%)	-	7 (2,86%)	-
<i>Peridroma saucia</i> (Hübner)	1 (2,0%)	1 (100%)	-	-
Total	50	14	245	40
	-	(28,0%)	-	(16,33%)

FONTE: O autor (2021).

A quantidade de lagartas coletadas na área Bt aumentou aproximadamente cinco vezes em relação à safra anterior (Tabela 2-B), e do total de 245 lagartas coletadas, 16,33% estavam parasitadas, apresentando uma queda de 58% em relação ao ano anterior. Porém, mesmo apresentando essa queda, o parasitismo influenciou na flutuação de lagartas ($F_{1,9} = 8,06$; $P = 0,029$). A maior média de lagartas coletadas na área Bt foi de sete lagartas por pano-de-batida, observada na oitava data de coleta quando a soja estava no estágio R5.2-3. No entanto, após a aplicação de Galil® SC para o controle de percevejos, houve uma queda na população de lagartas, uma vez que esse inseticida possui o ingrediente ativo bifentrina do grupo químico dos piretroides, que tem ação contra lepidópteros. Embora a simplificação do modelo, não houve diferença significativa na precipitação ($F_{1,9} = 0,57$; $P = 0,468$) em relação aos parasitoides coletados (Figura 2–F).

TABELA 3 - MODELOS SIMPLIFICADOS QUE AVALIARAM OS EFEITOS DAS VARIÁVEIS ABIÓTICAS + NÚMERO DE LAGARTAS PARASITADAS NA VARIÁVEL NÚMERO DE LAGARTAS COLETADAS. K= NÚMERO DE PARÂMETROS ESTIMADOS, LOGLIK = PROBABILIDADE LOGARÍTIMICA, AICC= VALOR DE AKAIKE CORRIGIDO, Δ AICC =DIFERENÇA ENTRE O VALOR DE AICC DE CADA MODELO E O MENOR VALOR DE AICC OBTIDO, $w\Delta$ AICC = PESO DE AKAIKE CORRIGIDO.

Modelos	k	logLik	AICc	Δ AICc	$w\Delta$ AICc
A) Safra 2017/2018 área não-Bt Lagartas coletadas ~ Lagartas parasitadas + Amplitude + Inseticida	5	-65,91	151,80	0,00	0,977
B) Safra 2018/2019 área não-Bt Lagartas coletadas ~ Lagartas parasitadas + Inseticida	4	-59,89	133,50	0,00	0,954
C) Safra 2017/2018 área Bt Lagartas coletadas ~ Lagartas parasitadas	3	-27,55	64,5	0	0,93
D) Safra 2018/2019 área Bt Lagartas coletadas ~ Lagartas parasitadas + Precipitação + Umidade relativa +Amplitude	6	-41,09	115,20	0,00	1

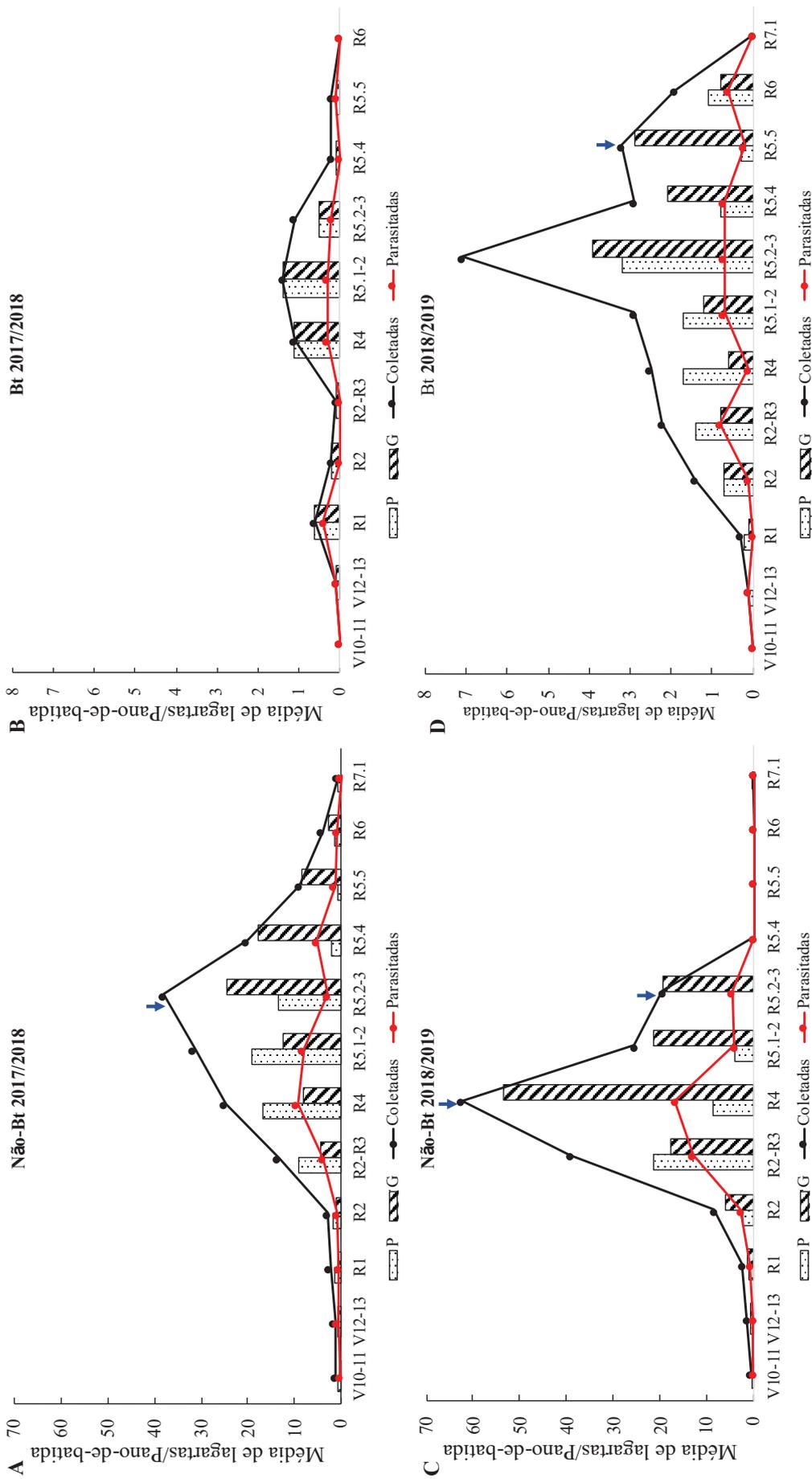
FONTE: O autor (2021).

TABELA 4 - MODELOS SIMPLIFICADOS QUE AVALIARAM OS EFEITOS DAS VARIÁVEIS ABIÓTICAS NA VARIÁVEL NÚMERO DE LAGARTAS PARASITADAS. K= NÚMERO DE PARÂMETROS ESTIMADOS, LOGLIK = PROBABILIDADE LOGARÍTIMICA, AICC= VALOR DE AKAIKE CORRIGIDO, Δ AICC =DIFERENÇA ENTRE O VALOR DE AICC DE CADA MODELO E O MENOR VALOR DE AICC OBTIDO, $w\Delta$ AICC = PESO DE AKAIKE CORRIGIDO.

Modelos	k	logLik	AICc	Δ AICc	$w\Delta$ AICc
A) Safra 2017/2018 área não-Bt Lagartas parasitadas ~ Umidade relativa	3	-57,237	123,5	0	1
B) Safra 2018/2019 área não-Bt Lagartas parasitadas ~ Umidade relativa	3	-63,75	136,50	0,00	0,801
C) Safra 2017/2018 área Bt Lagartas parasitadas ~ Precipitação + Umidade relativa	4	-17,54	49,7	0	0,959
C) Safra 2018/2019 área Bt Lagartas parasitadas ~ Precipitação	3	-7,859	65,1	0	0,998

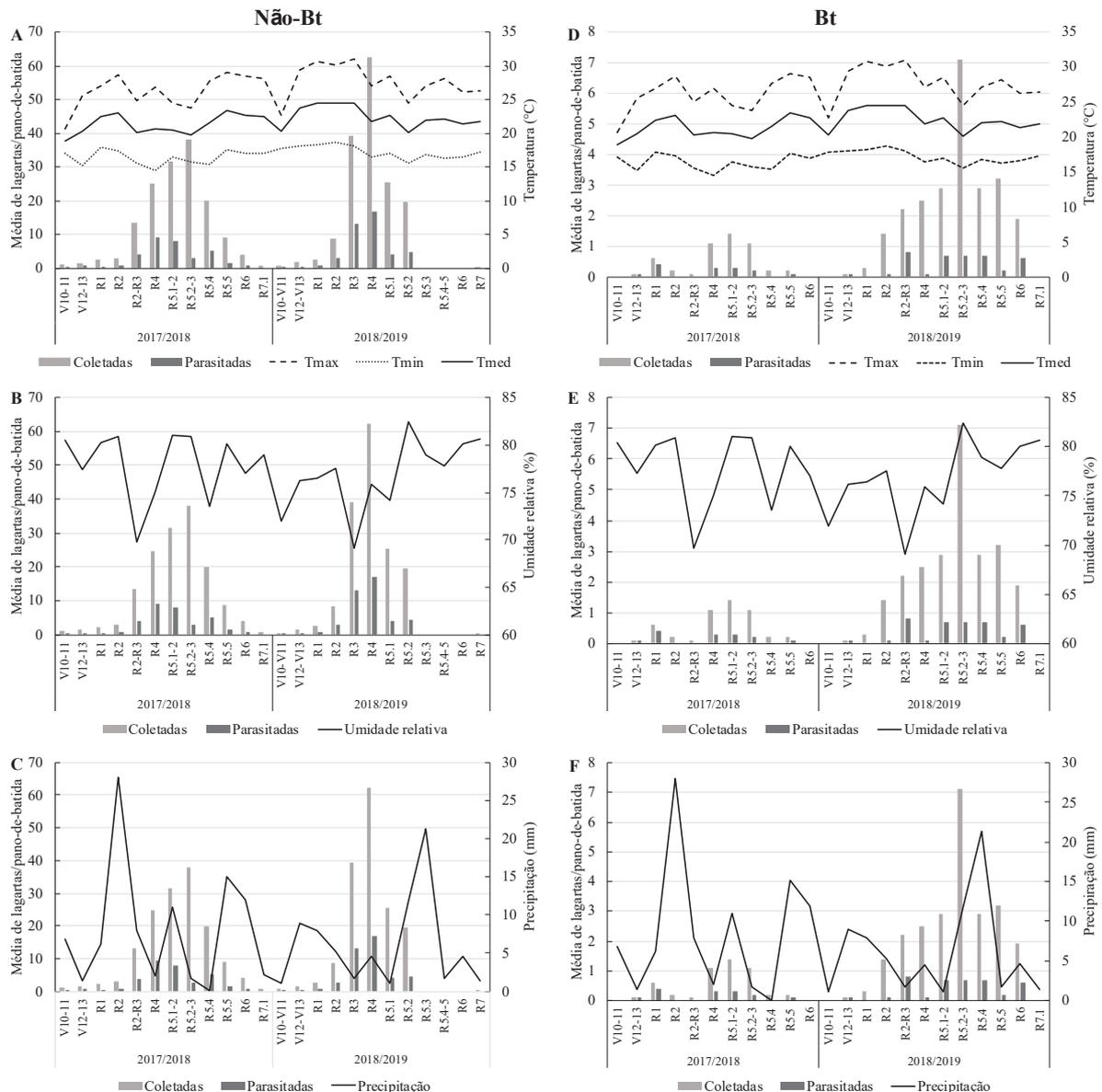
FONTE: O autor (2021).

FIGURA 1 – MÉDIA DE LAGARTAS COLETADAS E PARASITADAS POR PANO-DE-BATIDA EM CULTIVAR DE SOJA NÃO-Bt (A,C) E DE SOJA Bt (B,D) NO MUNICÍPIO DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS, ESTADO DO PARANÁ, DURANTE AS SAFRAS DE 2017/2018 E 2018/2019. SETAS INDICAM APLICAÇÃO DE INSETICIDA. P = LAGARTAS PEQUENAS (<1,5 CM) E G = LAGARTAS GRANDES (>1,5 CM).



FONTE: O autor (2021).

FIGURA 2 – MÉDIA DE LAGARTAS COLETADAS E PARASITADAS PELO MÉTODO DO PANO-DE-BATIDA E OS FATORES ABIÓTICOS NA ÁREA NÃO-Bt (A,B,C) E NA ÁREA Bt (D,E,F) DURANTE OS PERÍODOS DE COLETA NAS SAFRAS DE 2017/2018 E 2018/2019 NA CULTURA DA SOJA NO MUNICÍPIO DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS.



FONTE: O autor (2021).

3.2 ESPÉCIES DE LEPIDÓPTEROS E PARASITISMO NATURAL

3.2.1 Área não-Bt

No total das duas safras foram coletadas 3.073 lagartas na área não-Bt; destas, 1.827 pertencentes à subfamília Plusiinae não puderam ser identificadas, pois morreram em consequência do parasitismo e em decorrência da incerteza na identificação larval ao nível de espécie, estas foram enquadradas apenas ao nível de subfamília. Somando as espécies *C.*

inclusens, *R. nu* e os indivíduos não identificados pertencentes à mesma subfamília, o total correspondeu a 72,30% das lagartas coletadas na safra 2017/2018 (Tabela 1-A), sendo que destas, aproximadamente 22% estavam parasitadas. Na safra 2018/2019 (Tabela 1-B) além dessas três espécies, também foram coletados dois exemplares de *Trichoplusia ni* (Hübner), e juntas representaram 83,62% dos lepidópteros coletados, dos quais 28,45% morreram em função do parasitismo larval. Durante as duas safras, entre 15 e 20% do total de indivíduos coletados foram identificados como *C. inclusens*, enquanto *Rachiplusia nu* não representou mais que 2%.

Lagartas de *A. gemmatalis* representaram 15,68% dos indivíduos amostrados na safra de 2017/2018 e o parasitismo larval dessa espécie ficou em torno de 12,50%. Na safra 2018/2019 o número de indivíduos coletados foi 2,32 vezes inferior ao da safra anterior, representando 6,28% do total de lagartas coletadas. Apesar da diminuição do número de indivíduos dessa espécie, o parasitismo larval foi similar ao ano anterior.

Peridroma saucia (Hübner) foi coletada nas duas safras, em maior abundância na primeira, correspondendo a 2,64% dos indivíduos amostrados dos quais 25,64 % estavam parasitados e apenas 0,88% na segunda safra, com parasitismo de 35,71%. Do complexo *Spodoptera*, quatro espécies foram coletadas: *S. cosmioides*, *S. eridania*, *S. dolichos* e *S. frugiperda*, representando 9,38% na safra 2017/2018 e 8,98% na safra de 2018/2019. Das quatro espécies, apenas em *S. frugiperda* não houve parasitismo larval em nenhuma das safras, enquanto *S. eridania* apresentou o maior parasitismo na primeira safra (43,97%) e *S. dolichos* na segunda (50%), no entanto apenas 4 indivíduos desta espécie foram coletados (Tabela 1 A - B). Na safra 2018/2019, dois indivíduos de *Elaphria deltoides* (Möschler) e *Elaphria nucicolora* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae) foram coletadas.

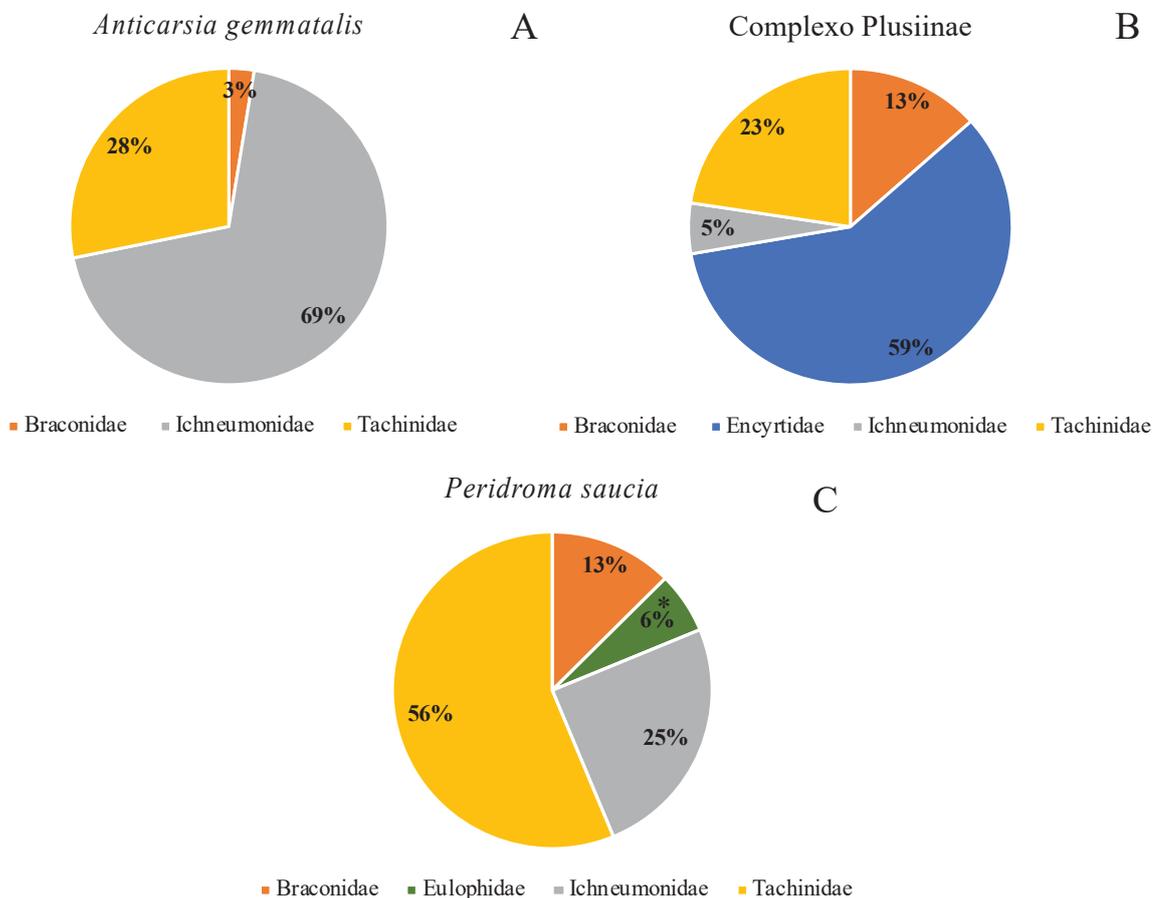
3.2.2 Área Bt

Na área Bt, 295 lagartas foram coletadas nas duas safras, sendo que na primeira, dos 50 indivíduos coletados foram identificadas quatro espécies, das quais *S. eridania* representou 76% do total de lagartas coletadas. Além dessa espécie, 10 lagartas de *S. cosmioides* (20,0%), uma de *S. frugiperda* (2,0%) e uma de *P. saucia* (2,0%) foram amostradas. Na safra 2018/2019 o número de lagartas coletadas aumentou cerca de cinco vezes em relação à safra anterior (Tabela 2-B). Novamente, *S. eridania* foi a espécie mais abundante (85,71%), seguida por *S. cosmioides* (11,43%) e *S. frugiperda* (2,86%). O parasitismo natural foi de 28% na safra 2017/2018 e de 16,33% em 2018/2019 (Tabela 2 A-B).

3.3 PORCENTAGEM DE PARTICIPAÇÃO DAS FAMÍLIAS DE PARASITÓIDES NAS ESPÉCIES DE HOSPEDEIROS COLETADOS

Parasitoides da ordem Hymenoptera representaram 76,58% dos parasitoides coletados na área não-Bt e 85,19% na área Bt durante as duas safras avaliadas, enquanto as espécies de Diptera representaram 23,42 % para a área não-Bt e 14,81% para a área Bt. Somente os dípteros foram identificados na totalidade ao nível de espécie, enquanto os himenópteros seguem em processo de identificação.

FIGURA 3 –PARASITISMO POR FAMÍLIA DAS ORDENS DIPTERA E HYMENOPTERA EM LAGARTAS DE *Anticarsia gemmatalis*, COMPLEXO PLUSIINAE E *Peridroma saucia* COLETADAS NAS SAFRAS 2017/2018 E 2018/2019 EM SOJA NÃO-Bt NO MUNICÍPIO DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS.



*Exemplar coletado na área Bt

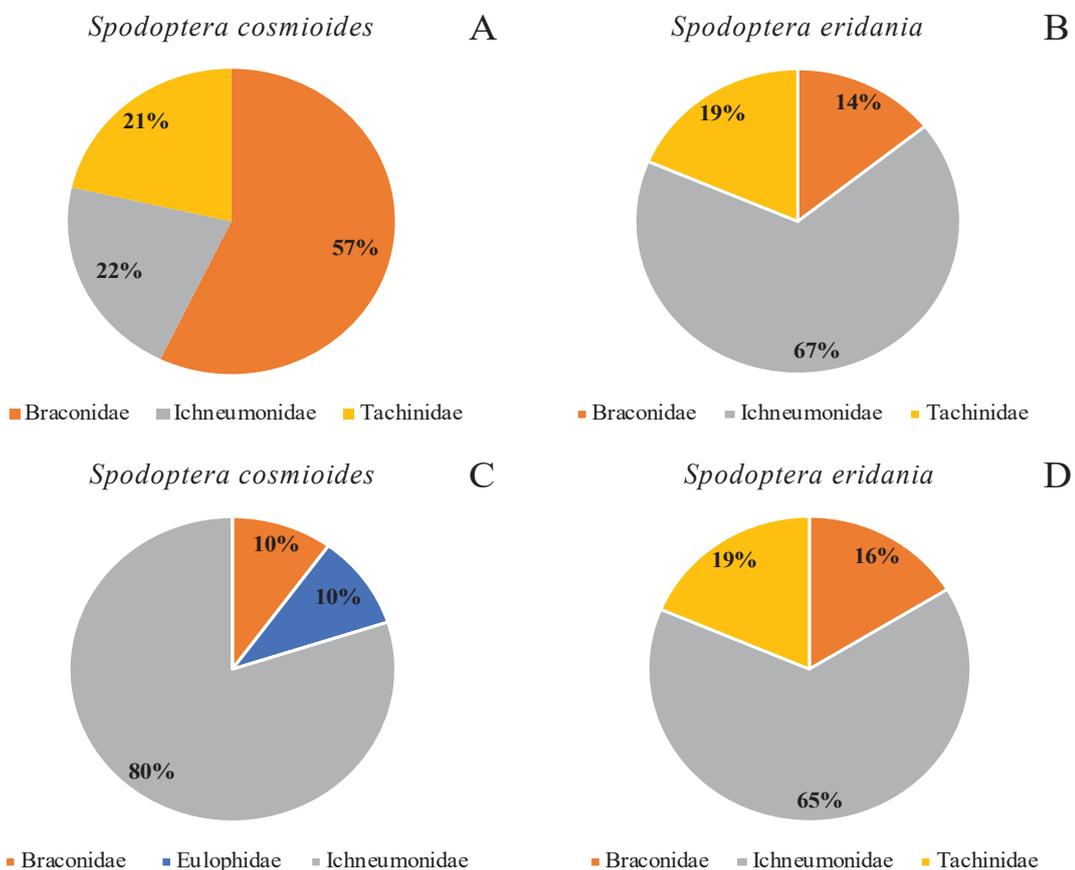
FONTE: O autor (2021).

Lagartas de *A. gemmatalis* (Figura 3A) foram predominantemente parasitadas pela ordem Hymenoptera, sendo que a família Ichneumonidae representou 69% do total amostrado, enquanto Braconidae correspondeu a 3% dos indivíduos parasitados. Moscas da família Tachinidae contribuíram com 28% do controle, sendo *Patelloa similis* (Townsend) a única espécie de Diptera emergida desse hospedeiro. Das lagartas do complexo Plusiinae (Figura 3B),

59% foram parasitadas por *Copidosoma* sp. (Ratzeburg) (Hymenoptera: Encyrtidae), e 18% foram parasitadas por Braconidae e Ichneumonidae (Hymenoptera). Dos dípteros (23%), foram identificadas quatro espécies, *Eucelatoria* sp. Townsend, *Lespesia affinis* (Townsend), *P. similis*, e *Voria ruralis* (Fällen).

Das lagartas de *P. saucia* (Figura 3C), a ocorrência de dípteros foi maior do que de himenópteros, e apenas *P. similis* foi coletada neste hospedeiro. Um único exemplar de *P. saucia* foi coletado na soja Bt e se encontrava parasitado por uma espécie de Eulophidae (*Euplectrus* sp. Westwood), cujo exemplar foi adicionado à Figura 3C, junto aos exemplares coletados na área não-Bt.

FIGURA 4 –PARASITISMO POR FAMÍLIA DAS ORDENS DIPTERA E HYMENOPTERA EM RELAÇÃO AO HOSPEDEIRO COLETADO NAS SAFRAS 2017/2018 E 2018/2019 NA CULTURA DA SOJA, EM CULTIVAR DE SOJA NÃO-Bt (A - B) E SOJA Bt (C - D) NO MUNICÍPIO DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS.



FONTE: O autor (2021).

Lagartas do complexo *Spodoptera* foram coletadas tanto na soja não-Bt, quanto na Bt; e o porcentual das famílias de parasitoides foi determinado separadamente para as duas áreas (Figura 4). Na área não-Bt, cerca de 80% dos parasitoides eram himenópteros; em *S. cosmioides* predominou a família Braconidae (57%), em *S. eridania* 67% dos parasitoides pertenciam à família Ichneumonidae (Figura 4 A-B). Na soja Bt, Ichneumonidae foi a família predominante

nos dois hospedeiros e em *S. cosmioides* foi registrada a presença da família Eulophidae parasitando 10% do total de lagartas parasitadas (Figura 4C).

Dentre os braconídeos coletados nas duas áreas experimentais parasitando *S. eridania* e *S. cosmioides*, foi coletada uma nova espécie do gênero *Aleiodes* Wesmael, que se encontra em fase de descrição. Das espécies de dípteros emergidas de *S. eridania*, foi registrada a ocorrência de quatro espécies: *Lespesia lanei* Guimaraes, *Neopaedarium* sp. Blanchard, *V. ruralis*, *Winthemia* sp. Robineau-Desvoidy. Das seis lagartas de *S. dolichos* coletadas, apenas duas foram parasitadas pelo díptero *L. affinis*.

4 DISCUSSÃO

A maior abundância de lagartas ocorreu na soja não-Bt, que correspondeu a 91,28% do total de indivíduos amostrados nas duas safras avaliadas. Esse valor é similar ao encontrado por Luz et al. (2019) em um levantamento comparando a ocorrência de lepidópteros em uma cultivar de soja Bt (BRS 9180 IPRO) e a isolinhagem não-Bt (BRS Sambaíba RR) no bioma do Cerrado, sendo que 92% das lagartas coletadas foram provenientes da cultivar não-Bt. No presente estudo, foram coletadas 11 espécies de lepidópteros que se desenvolveram e completaram o estágio larval em soja não-Bt.

Espécies do complexo Plusiinae foram as mais abundantes na área não-Bt, ocorrendo em um nível seis vezes maior do que *A. gemmatalis*, confirmando que, atualmente, as espécies desta subfamília são as principais pragas de soja em cultivares não resistentes ao ataque de insetos (ROLIM et al., 2013). Em regiões do Sul do Brasil dentre as espécies da subfamília Plusiinae, *R. nu* é mais abundante que *C. includens* (BARRIONUEVO et al., 2012; SOSA-GÓMEZ et al., 2014), no entanto dos indivíduos em que foi possível a identificação, a abundância de *C. includens* foi 10 vezes superior à de *R. nu*.

O parasitismo em *A. gemmatalis* foi predominante por espécies de Ichneumonidae, tal como observado por Silva (1993), onde *Microcharops bimaculata* (Ashmead) (Hymenoptera: Ichneumonidae) causou de 38 a 61% de mortalidade na lagarta da soja, podendo alcançar até 70% de parasitismo (BUENO et al., 2012). Essa espécie também pode parasitar em menor escala *C. includens* e *S. cosmioides* (PATEL, HABIB, 1998, BUENO et al., 2012). Para o complexo Plusiinae, o alto parasitismo por *Copidosoma* sp. confirma dados da literatura, onde o parasitismo por *Copidosoma floridanum* (Ashmead) foi reportado em níveis de até 65% em lagartas coletadas no Rio Grande do Sul (MORAES; LOECK; BELARMINO, 1991), e em 42 - 77% para *R. nu* coletadas em alfafa e soja na Argentina (AVALOS et al., 2004). Das espécies de dípteros coletados, *P. similis* emergiu de *A. gemmatalis* e de Plusiinae, confirmando os registros na literatura (SILVA, 1993; BUENO et al., 2012, AVALOS; MANGEAUD; VALLADARES, 2016). Espécies que compartilham do mesmo hospedeiro são altamente vantajosas para o controle biológico natural, pois na ausência de um hospedeiro, há chances da sobrevivência do parasitoide em outro, auxiliando no controle de ambas as espécies. Além de *P. similis*, *V. ruralis* e *L. affinis* já registradas para Plusiinae (MORAES; LOECK; BELARMINO, 1991; BUENO et al., 2012; AVALOS; MANGEAUD; VALLADARES, 2016), e *Eucelatoria* sp. se desenvolveram e emergiram de lagartas deste complexo, ressaltando o potencial de controle biológico pouco explorado de dípteros na cultura da soja.

Elaphria deltoides foi previamente coletada em soja Bt e não-Bt (LUZ et al., 2019), e *E. nucicolora* não havia sido descrita para esta cultura. *Peridroma saucia* já havia sido citada como um lepidóptero associado à cultura da soja, porém sem maiores detalhes de abundância ou cultivar onde foi coletada (FORMENTINI et al., 2015). No presente estudo, *P. saucia* esteve presente nos dois anos de levantamento na cultivar não-Bt e no primeiro ano na cultivar Bt, sendo que estudos preliminares indicaram que esta espécie apresenta uma tolerância natural à proteína Cry1Ac, possibilitando o desenvolvimento e estabelecimento em lavouras de soja (TAKAHASHI et al., 2019). No campo, *P. saucia* foi parasitada por *P. similis* e pelo ectoparasitoide *Euplectrus* sp., potenciais agentes de controle biológico desta espécie. Na Argentina, *P. saucia* foi coletada em cultivar de soja não-resistente ao ataque de insetos, porém nenhum parasitoide larval foi encontrado (AVALOS; MANGEAUD; VALLADARES, 2016).

Historicamente, espécies do complexo *Spodoptera* eram coletadas de forma esporádica e raramente causavam danos significativos em soja (MOSCARDI et al., 2012; BORTOLOTTI et al., 2015; CONTE et al., 2019). Mais recentemente, o aumento na proporção de indivíduos coletados na cultura sugere mais atenção no monitoramento de lagartas desse gênero, principalmente em lavouras de soja Bt que expressam a toxina Cry1Ac; a soja Bt não controla as espécies desse complexo (CONTE et al., 2019), pois estas apresentam tolerância natural a toxinas de *B. thuringiensis* (LUTTRELL et al., 1999; BERNARDI et al., 2014). No caso específico de *S. frugiperda*, a espécie apresenta resistência a diversas proteínas Bt disponíveis no mercado para a cultura do milho (OMOTO et al., 2016; MACHADO et al., 2020). Tais fatos tornam *Spodoptera* spp. como as principais pragas da soja Bt no Brasil (BLANCO et al., 2016). Isto se confirmou durante o levantamento, pois durante as duas safras avaliadas, somente espécies de *Spodoptera* foram coletadas na área Bt, exceto por uma lagarta de *P. saucia*. No entanto, Justiniano, Fernandes e Viana (2014) e Luz et al. (2019), coletaram em soja Bt *A. gemmatalis* e *C. includens*, porém em quantidades inferiores às encontradas em soja convencional. Yano et al. (2015) avaliaram 626 linhagens F2 de *C. includens* provenientes dos principais locais de produção de soja no Brasil entre 2008 e 2015, e constataram que nenhuma linhagem sobreviveu após o consumo de tecido foliar de soja Bt (Cry1Ac), concluindo que essa proteína é altamente tóxica a *C. includens*.

O aumento populacional de lagartas do complexo *Spodoptera* observado da primeira para a segunda safra, apenas para a área Bt, demonstra que na ausência de competição com outras espécies ao longo do tempo, o nicho ecológico previamente ocupado pelas espécies primárias, passa a pertencer a espécies secundárias e/ou a organismos não-alvo (CATARINO et al., 2015). No entanto, os danos ocasionados por lagartas de *Spodoptera* spp. são muito

superiores em comparação às demais espécies encontradas em cultivares convencionais de soja (BUENO et al., 2011), uma vez que além de consumir as folhas, também podem se alimentar das vagens (HOFFMANN-CAMPO et al., 2000; MOSCARDI et al., 2012). Portanto, é necessário associar outros métodos de controle para essas espécies em culturas Bt, a fim de aumentar a eficácia no controle e assegurar maior tempo de vida útil para a tecnologia Bt (KOS et al., 2009; LIU et al., 2014).

A diminuição substancial no uso de inseticidas químicos de amplo espectro destinados ao controle dos insetos-alvo da tecnologia Bt, beneficia diretamente a população de inimigos naturais e assim, aumenta a viabilidade do uso do controle biológico em culturas transgênicas Bt (ROMEIS et al., 2019). No entanto, quando comparado com *S. frugiperda*, os estudos avaliando os parasitoides que ocorrem em *S. cosmioides* e *S. eridania* são ínfimos (FREITAS et al., 2019). Nenhuma das espécies de dípteros emergidos de *S. eridania* (*V. ruralis*, *L. lanei*, *Neopaedarium* sp. e *Winthemia* sp.) observadas no presente estudo haviam sido registradas no Brasil para este hospedeiro. Para parasitoides da ordem Hymenoptera, a descoberta de uma nova espécie do gênero *Aleiodes* Wesmael, que parasita ambas as espécies de *Spodoptera*, abre a possibilidade da coleta e identificação de mais agentes de controle biológico com potencial de uso em larga escala. *Aleiodes* sp. nov. ataca lagartas de primeiro ao terceiro ínstar, matando com rapidez o hospedeiro (dados não publicados), indicando tratar-se de uma espécie altamente eficiente na redução dos danos de seus hospedeiros. Além de *Aleiodes* sp. nov., outras espécies ainda não identificadas oriundas deste estudo devem contribuir para o controle biológico de lepidópteros naturalmente tolerantes ou resistentes a proteínas Bt, uma vez que, assim como o observado para *A. gemmatalis* e espécies do complexo *Plusiinae*, possivelmente há compartilhamento das espécies de *Spodoptera* pelos parasitoides das diferentes famílias coletadas neste trabalho.

O parasitismo natural observado do total de lagartas coletadas para as duas áreas de avaliação apresentou média superior a 20% nas duas safras estudadas. Este é o primeiro estudo de parasitismo em campo em área Bt onde os hospedeiros foram coletados e criados, registrando-se a espécie do parasitoide e o respectivo hospedeiro. Essa metodologia difere do estudo de Marques et al. (2018) que avaliaram a comunidade de artrópodes presentes uma área de soja Bt (Cry1Ac e Cry1F) e não-Bt, utilizando armadilhas de Moericke e armadilhas de queda (Pitfall), sem contudo, registrar quais hospedeiros as espécies coletadas parasitavam. A metodologia mais similar com o presente estudo, é o de Massarolli et al. (2018) que coletaram 3.214 lagartas na cultura da soja durante quatro safras no estado do Mato Grosso, constatando parasitismo apenas por 14 indivíduos da família Ichneumonidae e 30 por Tachinidae,

representando 0,93% de parasitismo do total coletado. No presente estudo, das 3.368 lagartas coletadas em duas safras em área não-Bt e área Bt, 335 estavam parasitadas pelas mesmas famílias de parasitoides, sendo 149 por Ichneumonidae e 186 por Tachinidae, que juntas, representaram 9,95% do parasitismo total. O baixo parasitismo obtido por Massarolli et al. (2018) em comparação ao presente estudo, se deve aos plantios extensivos no estado do Mato Grosso, onde predominam as monoculturas com milhares de hectares (GAZZONI, 2012), tornando as paisagens agrícolas com baixa diversidade de vegetação natural para a manutenção das populações dos inimigos naturais.

A grande diversidade de famílias e espécies de parasitoides coletadas em lagartas naturalmente tolerantes às toxinas de *B. thuringiensis*, evidenciam a importância do controle biológico natural, principalmente em áreas de cultivo Bt. A conservação desses agentes auxilia no controle da densidade dos hospedeiros (PARRA et al., 2002), e contribui para retardar a evolução da resistência dos insetos a esta tecnologia, uma vez que os agentes de controle biológico não distinguem um hospedeiro resistente de um suscetível (LIU et al., 2014). Um dos possíveis fatores que pode ter influenciado na biodiversidade de espécies de inimigos naturais coletados neste estudo é a presença de vegetação natural no entorno das lavouras, pois a diversificação das paisagens agrícolas e a conservação de fragmentos de paisagem proporcionam alimento e refúgio para as populações de agentes de controle biológico, assim aumentando as taxas de controle biológico natural (THIES et al., 2011). Ademais, além de parasitoides larvais avaliados neste estudo, os lepidópteros-pragas também estão expostos à ação de predadores e entomopatógenos que ocorrem naturalmente no campo, e que em conjunto podem controlar as populações desses insetos sem a necessidade da utilização de inseticidas, principalmente em áreas onde a própria cultivar já expressa uma proteína inseticida, tornando o manejo de pragas mais sustentável.

REFERÊNCIAS

- AVALOS, S.; MAZZUFERI, V.; PORTA, N. La.; SERRA, G.; BERTA, C. El complejo parasítico (Hymenoptera y Diptera) de larvas de *Anticarsia gemmatalis* Hüb. Y *Rachiplusia nu* Guen. (Lepidoptera: Noctuidae) em alfafa y soja. **Agricoltura**, v.21, p.67-75, 2004.
- AVALOS, D.S.; MANGEAUD, A.; VALLADARES, G.R. Parasitism and food web structure in defoliating lepidoptera – parasitoid communities on soybean. **Neotropical Entomology**, v.45, p.712-717, 2016.
- BARRIONUEVO, M.J.; MURÚA, M.G.; GOANE, L.; MEAGHER, R.; NAVARRO, F. Life table studies of *Rachiplusia nu* (Guenée) and *Chrysodeixis* (= *Pseudoplusia*) *inclusens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) on artificial diet. **Florida Entomologist**, v.95, p.944-951, 2012.
- BERNARDI, OD.; MALVESTITI, G.S.; DOURADO, P.M.; OLIVEIRA, W.S.; MARTINELLI, S.; BERGER, G.U.; HEAD, G.P.; OMOTO, C. Assessment of the high-dose concept and level of control provided by MON 87701 x MON 89788 soybean against *Anticarsia gemmatalis* and *Pseudoplusia inclusens* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Pest Management Science**, v.68, p. 1083-1091, 2012.
- BERNARDI, O.; SORGATTO, R. J.; BARBOSA, A. D.; DOMINGUES, F. A.; DOURADO, P. M.; CARVALHO, R. A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G.P.; OMOTO, C. Low susceptibility of *Spodoptera cosmioides*, *Spodoptera eridania* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to genetically-modified soybean expressing Cry1Ac protein. **Crop Protection**, v. 58, p. 33-40, 2014.
- BLANCO, C.A.; CHARAVALLE, W.; DALLA-RIZZA, M.; FARIAS, J.R.; GARCÍA-DEGANO, M.F.; GASTAMINZA, G.; MOTA-SÁNCHEZ, D.; MURÚA, M.G.; OMOTO, C.; PIERALISI, B.K.; RODRÍGUEZ, J.; RODRÍGUEZ-MACIEL, J.C.; TERÁN-SANTOFIMIO, H.; TERÁN-VARGAS, A.P.; VALENCIA, S.J.; WILINK, E. Current situation of pests targeted by Bt crops in Latin America. **Current Opinion in Insect Science**, v.15, p.131-138, 2016.
- BORTOLOTTI, O.C.; SILVA, G.V.; BUENO, A.F.; POMARI, A.F.; MARTINELLI, S.; HEAD, G.P.; CARVALHO, R.A.; BARBOSA, G.C. Development and reproduction of *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) and its egg parasitoid *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) on the genetically modified soybean (Bt) MON 87701 x MON 89788. **Bulletin of Entomological Research**, v.104, p.724-730, 2014.
- BOURGUET, D.; CHAUFAX, J.; MICOUD, A.; DELOS, M.; NAIBO, B.; BOMBARDE, F.; MARQUE, G.; EYCHENNE, N.; PAGLIARI, C. *Ostrinia nubilalis* parasitismo and the field abundance of non-target insects in transgenic *Bacillus thuringiensis* corn (*Zea mays*). **Environmental Biosafety Research**, v.1; p.49-60, 2002.
- BUENO, R.C.O.F.; BUENO, A.F.; MOSCARDI, F.; PARRA, J.R.P. Lepidopteran larva consumption of soybean foliage: basis for developing multiple-species economic thresholds for pest management decisions. **Pest Management Science**, v.67, p.170-174, 2011.
- BUENO, A.F.; SOSA-GÓMEZ, D.R.; CORRÊA-FERREORA, B.S.; MOSCARDI, F.; BUENO, R.C.O.F. **Inimigos naturais das pragas da soja**. p. 493-629. In: HOFFMANN-

CAMPO, SPALDING CORRÊA-FERREIRA, MOSCARDI, Eds. Manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. Embrapa, 2012. 859 p.

CATARINO, R.; CEDDIA, G.; AREAL, F.J.; PARK, J. The impact of secondary pests on *Bacillus thuringiensis* (Bt) crops. **Plant Biotechnology Journal**, v.13, p.601-612, 2015.

CONTE, O.; OLIVEIRA, F.T.; HARGER, N.; CORRÊA-FERREIRA, B.S; ROGGIA, S.; PRANDO, A.M.; POSSAMAI, E.J.; REIS, E.A.; MARX, E.F. **Resultados do manejo integrado de pragas da soja na safra 2018/19 no Paraná**. Documentos 416, Embrapa Soja, Londrina, 63p., 2019.

DOURADO, P.M.; BACALHAU, F.B.; AMADO, D.; CARVALHO, R.A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G.P.; OMOTO, C. High susceptibility to cry1Ac and low resistance allele frequency reduce the risk of resistance of *Helicoverpa armigera* to Bt soybean in Brazil. **Plos One**, doi:10.1371/journal.pone.0161388, 2016.

FORMENTINI, A.C.; SOSA-GÓMEZ, D.R.; PAULA-MORAES, S.V.; BARROS, N.M.; SPECHT, A. Lepidópteros (Insecta) associados à cultura da soja na Argentina, Brasil, Chile e Uruguai. **Ciência Rural**, v.45, p.2113-2120, 2015.

FREITAS, J.G.; TAKAHASHI, T.A.; FIGUEIREDO, L.L.; FERNANDES, P.M.; CAMARGO, L.F.; WATANABE, I.M.; FOERSTER, L.A.; FERNANDEZ-TRIANA, J.; SHIMBORI, E.M. First record of *Cotesia scotti* (Valerio and Whitfield, 2009) (Hymenoptera: Braconidae: Microgastrinae) comb. nov. parasitising *Spodoptera cosmioides* (Walk, 1858) and *Spodoptera eridania* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 63, p.238-244, 2019.

FRIZZAS, M.R.; OLIVEIRA, C.M.; OMOTO, C. Diversity of insects under the effect of Bt maize and insecticides. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.84, p.1-8, e0062015, 2017.

GAZZONI, D.L. **Perspectivas do manejo de pragas**. p. 789 – 829. In: HOFFMANN-CAMPO, SPALDING CORRÊA-FERREIRA, MOSCARDI, Eds. Manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. Embrapa, 2012. 859 p.

HOFFMANN-CAMPO, C.B.; MOSCARDI, F.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; OLIVEIRA, L.J.; SOSA-GÓMEZ, D.R.; PANIZZI, A.R.; CORSO, I.C.; GAZZONI, D.L.; OLIVEIRA, E.B. **Pragas de soja no Brasil e seu manejo integrado**. Londrina: Embrapa Soja, 2000, 70 p.

JUSTINIANO, W.; FERNANDES, M.G.; VIANA, C.L.T.P. Diversity, composition and population dynamics of arthropods in the genetically modified soybeans Roundup Ready® RR1 (GT 40-3-2) and Intacta RR2 PRO® (MON87701 x MON89788). **Journal of Agricultural Science**, v.6, p.33-44, 2014.

KOS, M., van LOON, J.J.A., DICKE, M., VET, L.E.M. Transgenic plants as vital components of integrated pest management. **Trends in Biotechnology**, v.27, p.621-627, 2009.

LIU, X.; CHEN, M.; COLLINS, H.L.; ONSTAD, D.W.; ROUSH, R.T.; ZHANG, Q.; EARLE, E.D.; SHELTON, A.M. Natural enemies delay insect resistance to Bt crops. **Plos One**, v.9, e90366, doi:10.1371/journal.pone.0090366, 2014.

LU, Y.; WU, K.; JIANG, Y.; GUO, Y.; DESNEUX, N. Widespread adoption of Bt cotton and insecticide decrease promotes biocontrol services. **Nature**, 487, p. 362–365, 2012.

LUTTRELL, R.G.; WAN, L.; KNIGHTEN, K. Variation in susceptibility of noctuid (Lepidoptera) larvae attacking cotton and soybean to purified endotoxin proteins and commercial formulations of *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Economic Entomology**, v.92, p21-32, 1999.

LUZ, P.M.C.; SPECHT, A.; PAULA-MORAES, S.V.; MALAQUIAS, J.V.; FERREIRA, L.F.M.; OTANÁSIO, P.N.; DINIZ, I.R. Owllet moth (Lepidoptera: Noctuoidea) associated with Bt and non-Bt soybean in the Brazilian savanna. **Brazilian Journal of Biology**, v.79, p.248-256, 2019.

MACHADO, E.P.; RODRIGUES JUNIOR, G.L.S.; FÜHR, F.M.; ZAGO, S.L.; MARQUES, L.H.; SANTOS, A.C.; NOWATZKI, T.; DAHMER, M.L.; OMOTO, C.; BERNARDI, O. Cross-crop resistance of *Spodoptera frugiperda* selected on Bt maize to genetically-modified soybean expressing Cry1Ac and Cry1F proteins in Brazil. **Scientific Reports**, v.10. 10080, doi:10.1038/s41598-020-67339-1, 2020.

MARQUES, L.H.; SANTOS, A.C.; CASTRO, B.A.; STORER, N.P.; BABCOCK, J.M.; LEPPING, M.D.; SA, V.; MOSCARDINI, V.F.; RULE, D.M.; FERNANDES, O.A. Impact of transgenic soybean expressing Cry1Ac and Cry1F proteins on the non-target arthropod community associated with soybean in Brazil. **Plos One**, v.13, doi: 10.1371/journal.pone.0191567, 2018.

MASSAROLLI, A.; HOFFMANN, A.R.L.; FAVETTI, B.M.; BUTNARIU, A.R. Ichneumonids (Hymenoptera) and Tachinid flies (Diptera) associated to lepidopterans in soybean crops. **Journal of Agricultural Science**, v.10, p. 167-173, 2018.

MOSCARDI, F.; BUENO, A.F.; SOSA-GÓMEZ, D.R.; ROGGIA, S.; HOFFMANN-CAMPO, C.B.; POMARI, A.F.; CORSO, I.C.; YANO, S.A.C. Artrópodes que atacam as folhas da soja, p. 213-334, in: HOFFMANN-CAMPO, SPALDING CORRÊA-FERREIRA, MOSCARDI, Eds. **Manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Embrapa, 2012. 859 p.

MORAES, R.R.; LOECK, A.E.; BELARMINO, L.C. Inimigos naturais de *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) e de *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae) em soja no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.26, p.57-64, 1991.

OMOTO, C.; BERNARDI, O.; SALMERON, E.; SORGATTO, R.J.; DOURADO, P.M.; CRIVELLARI, A.; CARVALHO, R.A.; WILSE, A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G.P. Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. **Pest Management Science**, v.79, p. 1727-1736, 2016.

PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. Controle Biológico: terminologia. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J. M. S. (Ed.). (**Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo, Manole, 2002, p.1-16.

PIOVESAN, M.; SPECHT, A.; CARNEIRO, E.; PAULA-MORAES, S.V.; CASAGRANDE, M.M. Phenological patterns of *Spodoptera* Guenée, 1852 (Lepidoptera: Noctuidae) is more

affected by ENSO than seasonal factors and host plant availability in a Brazilian savanna. **International Journal of Biometeorology**, v.62, p.413-422, 2018.

PATEL, P.N.; HABIB, M.E.M. Development of *Microcharops anticarsiae* Gupta (Hym., Ichneumonidae), an endoparasitoid of the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatilis* (Lep., Noctuidae) and morphology of its immature stages. **Journal of Applied Entomology**, v.122, p.369-373, 1998.

PIOVESAN, M.; CARNEIRO, E.; SPECHT, A.; CASAGRANDE, M.M. Where and when? How phenological patterns of armyworm moths (Lepidoptera: Noctuidae) change along a latitudinal gradient in Brazil. **Bulletin of Entomological Research**, v.109, p.490-499, 2019.

RITCHIE, S.; HANWAY, J.J.; THOMPSON, H.E. **How a soybean plant develops**. Ames: Iowa State University of Science and Technology: Cooperative extension. 20p., 1985.

ROLIM, A.A.S.G.; YANO, S.A.C.; SPECHT, A.; ANDRADE, C.G.T.J.; SOSA-GÓMEZ, D.R. Morphological and molecular characterization of the eggs of some noctuid species associated with soybean in Brazil. **Annals of the Entomological Society of America**, v.106, p.643-651, 2013.

SANTOS, S.R.; SPECHT, A.; CARNEIRO, E.; PAULA-MORAES, S.V.; CASAGRANDE, M.M. Interseasonal variation of *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae) populations in the Brazilian savanna. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.61, p.294-299, 2017.

SILVA, M.T.B. Controle da lagarta da soja (*Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818 – Lepidoptera: Noctuidae). IV. Controle Biológico Natural*. **Ciência Rural**, v.23, p.127-132, 1993.

SOSA-GÓMEZ, D.R.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; HOFFMANN-CAMPO, C.B.; CORSO, I.C.; OLIVEIRA, L.J.; MOSCARDI, F.; PANIZZI, A.R.; BUENO, A.F. HIROSE, E.; ROGGIA, S. **Manual de identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja**. Documentos 269, Embrapa Soja, Londrina, 2014.

SPECHT, A.; SÓSA-GOMEZ, D.R.; PAULA-MORAES, S.V.; YANO, S.A.C. Morphological and molecular identification of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) and expansion of its occurrence record in Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, p.689–692, 2013.

ROMEIS, J.; NARANJO, S.E.; MEISSLE, M.; SHELTON, A.M. Genetically engineered crops help support conservation biological control. **Biological Control**, v.130, p.136-154, 2019.

THIES, C.; HAENKE, S.; SCHERBER, C.; BENGTTSSON, J.; BOMMARCO, R.; CLEMENT, L.W.; CERYNGIER, P.; DENNIS, C.; EMMERSON, M.; GAGIC, V.; HAWRO, V.; LIIRA, J.; WEISSER, W.W.; WINQVIST, C.; TSCHARNTKE, T. The relationship between agricultural intensification and biological control: experimental tests across Europe. **Ecological Applications**, v.21, p.2187-2196, 2011.

WOLFENBARGER, L.L.; NARANJO, S.E.; LUNDGREN, J.G.; BITZER, R.J.; WATRUD, L.S. Bt crop effects on functional guilds of non-target arthropods: a meta-analysis. **Plos One**, v.3. e2118, doi: 10.1371/journal.pone.0002118, 2008.

YANO, S.A.C.; SPECHT, A.; MOSCARDI, F.; CARVALHO, R.A.; DOURADO, P.M.; MARTINELLI, S.; HEAD, G.P.; SOSA-GÓMEZ, D.R. High susceptibility and low resistance allele frequency of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) field populations to Cry1Ac in Brazil. **Pest Management Science**, v.78, p.1578-1584, 2015.

YU, H.; LI, Y.; LI, X.; WU, K. Arthropod abundance and diversity in transgenic Bt soybean. **Environmental Entomology**, v.43, p.1124-1134, 2014.

4 CAPÍTULO II – RIQUEZA DE ESPÉCIES E COMPOSIÇÃO DA COMUNIDADE DE PARASITOIDES DE OVOS EM LAVOURA DE SOJA Bt E NÃO-Bt

RESUMO

Atualmente, culturas que expressam toxinas derivadas da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) fazem parte da mais moderna forma de controle de insetos-alvo no mundo. No entanto, o crescimento no número de espécies resistentes às plantas Bt e os frequentes casos de espécies que apresentam tolerância natural a estas proteínas, exigem que outras ferramentas sejam utilizadas para o controle de pragas nestas situações. O controle biológico é o método de maior sustentabilidade a ser utilizado em conjunto com culturas transgênicas Bt. Parasitoides de ovos estão entre os agentes de controle biológico mais estudados no mundo, por agirem ainda na fase de ovo, controlando a praga-alvo antes mesmo da eclosão e assim evitando que qualquer dano seja causado à cultura. Diversas espécies são facilmente criadas em larga escala para a liberação no campo, no entanto, a utilização excessiva de inseticidas ao longo dos anos juntamente com a ação das plantas Bt, comprometeu toda a dinâmica de pragas e inimigos naturais. O objetivo desse capítulo foi verificar a composição de espécies de parasitoides de ovos que podem auxiliar no controle de pragas não-alvo da soja Bt que expressa a toxina Cry1Ac. Cinco gaiolas contendo mariposas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner e cinco armadilhas contendo posturas de *Spodoptera eridania* (Stoll) foram dispostas em duas áreas comerciais de soja, uma plantada com soja transgênica Bt e outra com soja transgênica não-Bt, durante as safras de 2017/2018 e 2018/2019. Na terceira safra, 2019/2020 o número de gaiolas foi duplicado e não foram utilizadas armadilhas de *S. eridania*. Além disso, posturas encontradas em plantas fora das gaiolas nas duas áreas, foram também coletadas. Os ovos provenientes das gaiolas e das armadilhas eram observados no laboratório a fim de constatar o parasitismo. No total das duas áreas, 3422 ovos foram coletados sendo que 1225 (35,8%) estavam parasitados. O parasitismo de ovos de *A. gemmatalis* na área Bt foi de 37,76% e na área não-Bt de 33,77%. Uma postura de *Spodoptera cosmioides* (Walker) e uma de *Peridroma saucia* (Hübner) coletadas na área Bt em plantas de fora das gaiolas estavam parasitadas. Nenhuma postura das armadilhas de *S. eridania* foi parasitada. Os parasitoides coletados pertencem a três famílias: Aphelinidae (*Encarsia* sp.), Platygasteridae (*Telenomus* spp.) e Trichogrammatidae (*Trichogramma* spp.). Dos indivíduos pertencentes ao gênero *Telenomus* Haliday, ao menos quatro novas espécies já foram confirmadas, além disso foi registrada a recaptura de *Telenomus remus* Nixon pela primeira vez na região do Sul do Brasil. Todas as seis espécies de *Trichogramma* Westwood previamente relacionadas com ovos de *A. gemmatalis* foram coletadas nesse estudo, e uma nova espécie foi coletada e descrita. No geral, a área Bt apresentou maior riqueza e diversidade de espécies em comparação com a área não-Bt. Tais resultados possivelmente se devem ao fato das áreas estudadas estarem rodeadas por vegetação e fragmentos de mata nativa, que ajudam na preservação da biodiversidade dos parasitoides de ovos, possibilitando a ação do controle biológico natural em culturas transgênicas.

Palavras-chave: *Trichogramma*, *Telenomus*, bioprospecção

ABSTRACT

Currently, crops expressing toxins derived from the bacterium *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) are part of the most modern form of control of target insects worldwide. However, the growing number of species resistant to Bt plants and the frequent cases of species that have natural tolerance to these proteins, demand that other methods for controlling insect pests are available to cope with these situations. Biological control is the most sustainable tool to be used in conjunction with Bt transgenic crops. Egg parasitoids are among the most studied biological control agents worldwide, as they act in the egg phase, controlling the target pest before it hatches and thus preventing any damage to the crop. Several species are easily reared on a large scale for release in the field, however, the excessive use of insecticides over the years and the continuous use of Bt plants compromised all the dynamics of pests and natural enemies. The objective of this chapter was to assess the composition of the egg parasitoid complex that can assist in the control of non-target pests on Bt soybeans that expresses the Cry1Ac toxin. Five cages containing *Anticarsia gemmatalis* Hübner moths and five traps containing *Spodoptera eridania* (Stoll) egg masses were placed in two commercial soybean areas, one planted with Bt transgenic soybeans and the other with transgenic non-Bt soybeans, during the 2017/2018, 2018/2019 crops. In the third crop season, in 2019/2020 the number of cages was doubled and no *S. eridania* traps were used. In addition, egg masses found in plants outside the cages in both areas were also collected. Eggs from cages and traps were inspected in the laboratory for parasitism. In the total of the two areas, 3422 eggs were collected and 1225 (35.8%) were parasitized. The parasitism of *A. gemmatalis* eggs in the Bt area was 37.76% and in the non-Bt area 33.77%. In addition, an egg-mass of *Spodoptera cosmioides* (Walker) and one of *Peridroma saucia* (Hübner), collected in the Bt area on the plants outside the cages were parasitized. No eggs from the *S. eridania* traps were parasitized. The collected parasitoids belong to three families: Aphelinidae (*Encarsia* sp.), Platygasteridae (*Telenomus* spp.) and Trichogrammatidae (*Trichogramma* spp.). At least four new species of *Telenomus* Haliday have already been confirmed, in addition to the first report of *Telenomus remus* Nixon recapture in the southern region of Brazil. All six species of *Trichogramma* Westwood previously recorded associated to *A. gemmatalis* eggs were collected in this study, and a new species was discovered and is described in chapter III. In general, the Bt area showed greater species richness and diversity compared to the non-Bt area, possibly due to the fact that this area is surrounded by vegetation and fragments of native forest, which help to preserve the biodiversity of egg parasitoids, enabling the action of natural biological control in transgenic crops.

Key-words: *Trichogramma*, *Telenomus*, bioprospecting

1 INTRODUÇÃO

As plantas geneticamente modificadas que expressam as toxinas derivadas da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) Berliner (Eubacteriales: Bacillaceae) se tornaram o principal componente no controle de insetos-praga para as culturas de maior interesse econômico, como a soja *Glycine max* L. Merrill (BERNAL, 2010; ROMEIS et al., 2019). Atualmente, a soja é a principal cultura em extensão no território brasileiro (CONAB, 2020), e desde a liberação comercial da primeira cultivar que expressa a toxina Cry1Ac (Intacta® - eventos MON 87701 x MON 89788) no continente Sulamericano em 2013/2014, a adoção de plantas Bt foi amplamente aceita entre os produtores deste grão (BROOKES, 2018). Essa tecnologia visa o controle das principais lagartas desfolhadoras da cultura, a lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Erebididae) e a lagarta falsa medideira *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae). Além de controlar eficientemente os insetos-alvo, a utilização da tecnologia Bt diminui a utilização de inseticidas, beneficiando e promovendo a ação dos inimigos naturais, principalmente de predadores (WU et al., 2008; LU et al., 2012). Porém, a redução nas aplicações de inseticidas vem apresentando resultados contraditórios, uma vez que plantas Bt ao controlarem as pragas primárias, favorecem um aumento substancial de pragas secundárias (ZHAO et al., 2011). Um dos entraves dos cultivos Bt é a modificação na composição e na dinâmica da entomofauna dos agroecossistemas, tanto na relação de espécies-pragas quanto nos inimigos naturais (BERNAL, 2010; LUNDGREN et al., 2009; MORAES et al., 2011). Apesar da soja Bt controlar com eficiência as duas principais espécies-pragas da cultura (BERNARDI et al., 2012), a toxina Cry1Ac tem pouca ou nenhuma ação sobre lagartas do complexo *Spodoptera* Gueneé (Lepidoptera: Noctuidae) LUTTRELL; WAN; KNIGHTEN, 1999; BERNARDI et al., 2014). Uma vez que as pragas-alvo são controladas, outras espécies ocupam o nicho de alimentação das espécies-chave, como as espécies do complexo *Spodoptera* (MACHADO et al., 2020), as quais podem se tornar relevantes a longo prazo (CATARINO et al., 2015).

As estratégias modernas de controle de pragas incentivam diretamente o uso do controle biológico (CB), seja pela ocorrência natural, seja pela liberação massal de parasitoides (BERNAL, 2010). Com as mudanças no cenário de controle de pragas, o uso de CB vem ganhando maior relevância nas lavouras Bt, pois os casos recorrentes de evolução da resistência de insetos-alvo a toxinas Cry ocasionam a perda na eficácia desta tecnologia. Uma vez que os inimigos naturais não distinguem insetos hospedeiros resistentes de suscetíveis, eles colaboram

diretamente no controle e no retardamento da evolução da resistência (LIU et al., 2014; ROMEIS et al., 2019).

Uma das alternativas mais eficazes no controle de lepidópteros-praga é o uso de parasitoides de ovos, pois estes controlam a praga antes mesmo que algum dano seja causado na cultura (ULRICHS; MEWIS, 2004) e apresentam papel importante no controle de insetos-pragas tanto em condições naturais (AVANCI; FOERSTER; CAÑETE, 2005; ZANÚNCIO et al., 2009; DEQUECH et al., 2013; KUTUK, 2017), quanto em liberações de vespas criadas em laboratório (WANG et al., 2014; FIGUEIREDO et al., 2015; RAZINGER et al., 2015). No Brasil, destacam-se os estudos envolvendo parasitoides de ovos do gênero *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *Telenomus* Haliday (Hymenoptera: Platygasteridae) nas culturas de algodão, soja, milho, cana-de-açúcar, tomate e outras hortaliças (PARRA 2014, PARRA; BORTOLOTTI et al., 2014; COELHO JUNIOR, 2018). No entanto, a drástica mudança no *status* das pragas desfolhadoras influencia diretamente as espécies de parasitoides, pois estes podem ser afetados pela quantidade ou qualidade dos hospedeiros que ocorrem na área (LUNDGREN et al., 2009).

Assim, o objetivo desse estudo foi comparar a ocorrência de parasitoides de ovos em plantios de soja suscetível ao ataque de lagartas (soja não-Bt) e resistente às espécies desfolhadoras-chave da cultura (soja Bt), assim como comparar a diversidade das espécies entre as duas áreas, e a influência dos fatores abióticos no parasitismo natural.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 ÁREA DE COLETA

O estudo foi conduzido em duas áreas comerciais de soja geneticamente modificada no município de São José dos Pinhais (25°36'49"S, 49°08'01"W), no estado do Paraná, entre os meses de janeiro e março nas safras de 2017/2018, 2018/2019 e 2019/2020. A vegetação do entorno do local é composta por fragmentos de floresta ombrófila mista e o clima da região é classificado como Cfb – Temperado Oceânico pela classificação de Köppen (KOTTEK et al., 2006). Além da soja, as culturas semeadas ao longo do ano ou próximos da área de coleta são: trigo (*Triticum aestivum* Linnaeus), milho (*Zea mays* Linnaeus), aveia preta (*Avena strigosa* Schreb), morango (*Fragaria x ananassa* Duchesne) e vegetais, principalmente da família Brassicaceae e Asteraceae.

A área não-Bt, com cerca de 12 hectares, foi semeada durante os três anos de avaliação com a cultivar de soja NA5909RG, que expressa tolerância à aplicação do herbicida glifosato - Roudup Ready®. A área Bt, com aproximadamente 14 hectares foi semeada na primeira safra de avaliação com a cultivar SYN13671 IPRO, na segunda safra a área foi dividida em duas partes, onde foram semeadas as cultivares M5917 IPRO e a cultivar SYN1561 IPRO, e na terceira safra, a área foi dividida em duas partes com as cultivares M5947 IPRO e AS3590 IPRO. Todas as cultivares semeadas na área Bt além de apresentarem tolerância à aplicação do herbicida glifosato, expressam a proteína Cry1Ac de *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) que confere resistência ao ataque de lepidópteros-alvo da cultura. As duas áreas se encontravam a uma distância de aproximadamente 500 m uma da outra.

Por se tratar de duas áreas particulares com finalidade comercial, o manejo da cultura foi baseado nas orientações fitossanitárias para o controle de doenças, e no MIP soja para a aplicação de inseticidas. Semanalmente, em 10 pontos aleatórios de cada área, eram realizadas amostragens de insetos usando o método do pano-de-batida (SHEPARD et al., 1974). Os insetos coletados eram levados ao laboratório, onde realizava-se a triagem do material e totalizava-se a média de lagartas coletadas em cada área e os dados eram comparados com as recomendações de amostragem (MOSCARDI et al., 2012). No primeiro ano de coleta, apenas uma aplicação de inseticida foi necessária na área RR no dia 21/02/2018 com os inseticidas Ampligo® (lambda-cialotrina + clorantraniliprole; 75 mL/ha) + Match® EC (lufenurom; 150 mL/ha). Na segunda safra, a densidade de lagartas aumentou consideravelmente e foram necessárias duas aplicações, uma no dia 08/02/2019 com Ampligo® + Match® EC e no dia

22/02/2019 com Proclaim[®] 50 (benzoato de emamectina; 150 g/ha) e na terceira safra apenas uma aplicação de Ampligo[®]+ Match[®] EC no dia 25/01/2020 foi suficiente para controlar a densidade de lagartas desfolhadoras. Na área Bt apenas na safra de 2018/2019, no dia 06/03/2019 foi feita uma aplicação de Galil[®] SC (imidacloprido + bifentrina; 400 mL/ha) para o controle de percevejos, enquanto que nas demais safras não foram necessárias aplicações de inseticidas nesta área.

Os fatores abióticos de temperatura (°C) mínima, média e máxima, umidade relativa (%) e precipitação (mm) durante os meses avaliados nas safras, foram obtidos da estação meteorológica do Sistema Meteorológico do Paraná (SIMEPAR), localizada a 20 km de distância das áreas de coleta.

2.2 COLETA DE PARASITOIDES

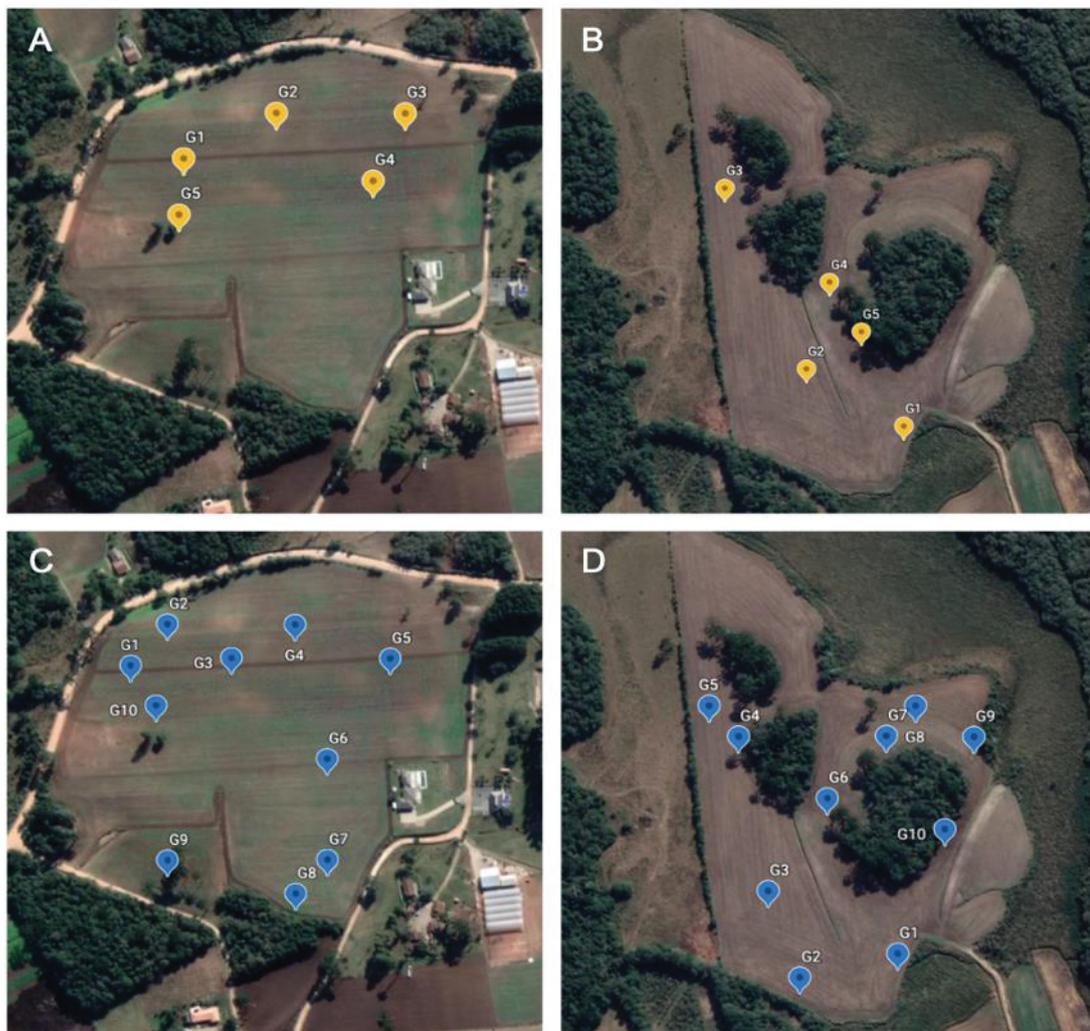
Para a coleta de ovos, plantas de soja foram infestadas artificialmente com quatro casais de *A. gemmatalis* mantidos em gaiolas de tule seguindo a metodologia de Avanci, Foerster e Cañete (2005). A instalação das gaiolas foi realizada a partir da primeira semana de janeiro nas três safras avaliadas, quando as plantas de soja estavam no estágio vegetativo entre V6 e V7. Cada gaiola continha uma planta de soja, e os quatro casais de *A. gemmatalis* criados em laboratório permaneciam no campo por uma semana para ovipositarem.

Após esse período as plantas eram arrancadas e as gaiolas realocadas sobre novas plantas e novos casais de mariposas liberados. As plantas removidas eram individualizadas em sacos plásticos e identificadas em relação à posição da gaiola no campo. No laboratório as plantas eram inspecionadas integralmente, e os ovos encontrados eram individualizados em tubos de vidro identificados e posteriormente mantidos em estufas climatizadas a 25 ± 2 °C, $60\% \pm 10$ UR e fotoperíodo de 14:10. Diariamente os ovos eram verificados quanto à eclosão de lagartas ou a emergência de parasitoides. Os tubos que continham ovos parasitados recebiam um filete de mel puro para a alimentação dos parasitoides assim que emergissem. Quando constatada a emergência, ovos de *A. gemmatalis* eram fornecidos aos parasitoides para aumentar o número de exemplares para posterior identificação. As gaiolas foram mantidas em campo até a fase de maturação plena (RITCHIE; HANWAY; THOMPSON, 1985), momento que não haviam mais folhas de soja para a oviposição das mariposas.

A Figura 1 mostra a disposição das gaiolas nos três anos de avaliação; nas duas primeiras safras, foram instaladas cinco gaiolas em cada área (Figuras 1 A-B) e na safra de 2019/20 foram instaladas 10 gaiolas em cada área (Figuras 1 C-D). Intercalando com as gaiolas de *A.*

gemmatalis, durante as safras 2017/2018 e 2018/2019, foram instaladas cinco armadilhas contendo ovos de *S. eridania*. As armadilhas eram compostas por um grampo, que em uma das extremidades continha um compartimento de acetato (2 cm x 2 cm) e este na parte superior era coberto por um tecido tule que permitia a passagem de parasitoides. O grampo era preso no caule da planta de soja e as posturas de *S. eridania* inseridas em cada armadilha eram previamente esterilizadas antes de serem levadas ao campo.

FIGURA 1 - VISTA AÉREA DAS DUAS ÁREAS DE COLETA. PONTOS DE COLETA DA ÁREA NÃO-Bt (A) E DA ÁREA Bt (B) DURANTE AS SAFRAS DE 2017/2018 E 2018/2019. PONTOS DE COLETA DA ÁREA NÃO-Bt (C) E DA ÁREA Bt (D) DURANTE AS SAFRAS DE 2019/2020.



FONTE: O autor (2021).

Para facilitar a localização das gaiolas e das armadilhas, estacas de ferro de aproximadamente 2 metros de altura eram enterradas no solo e na extremidade superior uma bandeirola amarela sinalizava o local da armadilha. Eventualmente as mariposas presentes no campo ovipositavam na parte externa das gaiolas e nas bandeirolas, e as posturas eram removidas e levadas ao laboratório para verificação de parasitismo.

2.3 IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES DE PARASITOIDES DE OVOS

Quando possível, os parasitoides coletados foram multiplicados para aumentar o número de exemplares e, posteriormente, foram mortos e conservados em etanol 99%. Para a identificação dos parasitoides do gênero *Trichogramma*, foi realizada a preparação do material seguindo o protocolo descrito por Querino e Zucchi (2012), segundo o qual os espécimes foram montados em lâminas utilizando o meio de montagem de Hoyer. As características morfológicas foram comparadas com as espécies já descritas na América do Sul (QUERINO; ZUCCHI, 2019). Uma das amostras de *Trichogramma* spp. que estava sendo multiplicada destacou-se devido aos parâmetros biológicos e morfológicos, os quais não se encaixavam nas descrições das espécies encontradas na América do Sul. Esta espécie foi analisada também por meio de análise molecular seguindo os protocolos de Vieira, Querino e Zucchi (2014) para a região do espaço transcrito interno 2 (ITS2) do DNA ribossomal e o protocolo de Kenis et al. (2019) para a região mitocondrial do citocromo c oxidase I (COI).

Os espécimes pertencentes à família Platygasteridae coletados na primeira safra foram enviados para identificação aos taxônomos Dra. Cecília Margaria e Dr. Daniel Aquino do Museo de La Plata – Argentina, e a descrição de duas novas espécies está em processo de publicação. Os exemplares coletados na segunda e terceira safra ainda estão sendo analisados; no entanto ao menos duas outras novas espécies coletadas na safra 2018/2019 e 2019/2020, seguem em processo de análise.

2.4 CÁLCULO FAUNÍSTICO

A partir da identificação dos parasitoides, foram calculados os índices de frequência relativa, constância e dominância.

Frequência relativa

É a relação entre número de indivíduos de espécie coletada, e o número total de indivíduos coletados, calculado através da fórmula de Silveira Neto et al. (1976);

$$F = \frac{n}{N} \times 100$$

Onde:

F = frequência relativa;

n = número de indivíduos da espécie de interesse;

N = número total dos indivíduos coletados.

Constância

Determinada a partir da fórmula de Bodenheimer (1938);

$$C = \frac{p}{N} \times 100$$

Onde:

C = constância da espécie (%);

p = número de coletas contendo a espécie de interesse;

N = número total de coletas.

Após o cálculo, os resultados em porcentagem foram classificados:

Espécie constante = presente em mais de 50% das amostras;

Espécie acessória = presente entre 25 a 50% das amostras;

Espécie acidental = presente em menos de 25% das amostras.

Dominância

A espécie é considerada dominante quando apresenta frequência relativa superior ao valor de d calculado pela fórmula de Uramoto et al. (2005).

$$d = \frac{1}{S} \times 100$$

Onde:

S = número total de espécies na amostra

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para avaliar a influência dos fatores abióticos no número de ovos coletados e número de ovos parasitados das duas áreas de avaliação foram somados. Tal decisão justifica-se devido às duas áreas estarem a uma distância de 500 m uma da outra, e foram submetidas às mesmas variáveis, com exceção das duas cultivares (Bt e não-Bt), porém, já foi comprovado que as

mariposas não distinguem entre uma cultivar Bt ou não-Bt (TORRES; RUBERSON, 2006; LUONG et al., 2016). Como as gaiolas permaneciam expostas durante sete dias entre as coletas, para avaliar a influência dos fatores abióticos em cada data de coleta, foi utilizada a média de cada variável climática referente à semana da coleta.

Foram utilizados modelos lineares generalizados, com a distribuição gaussiana uma vez que os dados utilizados eram contínuos. Foram construídos seis modelos globais, os três primeiros tiveram o número de ovos coletados/safra como variável resposta e os fatores abióticos mais o número de ovos parasitados como variável preditiva. Aqui incluímos o número de ovos parasitados como variável resposta, pois muitos dos ovos que foram coletados já apresentavam sinais de parasitismo e como as coletas ocorriam semanalmente, os primeiros ovos colocados pelas mariposas se não tivessem sido parasitados teriam as lagartas eclodidas e assim os ovos não eram contabilizados.

Anterior à montagem dos modelos, foi analisada a correlação das variáveis através do teste de Pearson, sendo considerado valores maiores que 0,7 ou menores que - 0,7 como fator de multicolinearidade. Para corroborar com as observações de multicolinearidade foi utilizada a função vif (variance inflation factor) do pacote car (FOX; WEISBERG, 2018) que mede a proporção que uma variável é inflacionada pela presença de outra variável. Variáveis com valores de vif acima de 5 foram consideradas com alta colinearidade e foram eliminadas; após a retirada, o modelo foi novamente testado para verificar se os novos valores de vif se encontravam dentro do limite indicado. Os resíduos dos modelos foram avaliados usando o pacote DHARMA (HARTING, 2020). Os modelos foram selecionados usando o critério de informação de Akaike corrigido (AICc), utilizando a função dredge do pacote MuMIn (BARTÓN, 2020); posteriormente foram selecionados os melhores modelos considerando os valores de delta Δ AICc menores que 4 (BURNHAM; ANDERSON, 2002). Os melhores modelos para cada variável resposta foram submetidos à análise de variância ($P < 0,05$).

A distribuição dos ovos parasitados por gaiola foi avaliada utilizando um modelo com zero inflacionado com distribuição de Poisson. O modelo foi construído utilizando o pacote pscl (JACKMAN, 2008). Para cada safra e área avaliada, os modelos foram submetidos a análise de variância ($P < 0,05$) e quando houve diferença significativa as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) utilizando o pacote emmeans (LENTH, 2020). Para comparar o número de ovos coletados ao longo das safras nas áreas Bt e não-Bt, um modelo linear generalizado com distribuição de Poisson com função de ligação log, foi submetido a análise de variância ($P < 0,05$) para determinar as diferenças entre os dois tratamentos. As análises foram realizadas no software R versão 3.6.1 (R CORE TEAM, 2019).

Para o cálculo dos estimadores de riqueza das duas áreas, as espécies de *Trichogramma* em que a identificação não foi possível de ser realizada foram removidas das análises. Os dados dos três anos de coleta de cada área foram somados, estimando a diversidade total de cada área. Os valores dos índices de diversidade de Shannon-Wiener e Simpson, e de equabilidade de Pielou foram calculados usando o programa Past 4.04 (HAMMER; HARPER; RYAN, 2001). O índice de diversidade de Simpson foi calculado subtraindo 1 – valor de dominância de Simpson. Os cálculos de frequência, constância e dominância foram realizados no programa Excel[®].

3 RESULTADOS

3.1 INFLUÊNCIA DOS FATORES BIÓTICOS E ABIÓTICOS NOS OVOS COLETADOS E PARASITADOS

A partir dos modelos globais, para a variável número de ovos coletados e parasitados na safra 2017/2018 foi possível simplificar os modelos (Tabela 1-A) e do modelo simplificado constatou-se que o número de ovos parasitados ($F_{1,9} = 8,45$; $P = 0,019$) influenciou o número de ovos coletados; cerca de 30% dos ovos que foram encontrados estavam parasitados. Já a amplitude térmica não foi estatisticamente significativa ($F_{1,9} = 8,45$; $P = 0,019$). Analisando a variável número de ovos parasitados (Tabela 2-A), apesar da simplificação do modelo ($Op \sim Ur$) não houve influência significativa ($F_{1,8} = 3,53$; $P = 0,097$).

Na safra de 2018/2019 apesar da simplificação do modelo (Tabela 1-B), não houve significância estatística da umidade relativa no número de ovos coletados ($F_{1,9} = 0,89$; $P = 0,269$). Na variável ovos parasitados (Tabela 2-B), tanto a média da amplitude térmica ($F_{1,9} = 0,01$; $P = 0,901$), quanto a média da umidade relativa ($F_{1,8} = 3,55$; $P = 0,096$) não tiveram influência estatística.

Na safra 2019/2020 o número de ovos parasitados ($F_{1,9} = 32,24$; $P = <0,001$) e a média da umidade relativa ($F_{1,8} = 5,87$; $P = 0,042$) influenciaram diretamente no número de ovos coletados (Tabela 1-C). O parasitismo natural observado nessa safra foi de aproximadamente 43%, e a média da umidade relativa durante o período de coleta foi de 57%, valor bem abaixo do observado durante as duas primeiras safras onde a média observada foi de 77%. Para a variável número de ovos parasitados, a média da amplitude térmica ($F_{1,9} = 7,45$; $P = 0,026$) e a média da precipitação ($F_{1,8} = 5,35$; $P = 0,049$) influenciaram significativamente a quantidade de ovos parasitados nessa safra. A média da amplitude térmica durante o período de coleta foi em torno de 6°C e a precipitação média acumulada foi de 32,97 mm; esses valores são os menores observados em relação às safras anteriores onde os valores para as 11 semanas de coleta foram respectivamente de 10°C e 87,57 mm de precipitação para a safra 2017/2018 e 11°C e 69,03 mm na safra 2018/2019.

TABELA 1 - MODELOS SIMPLIFICADOS QUE AVALIARAM OS EFEITOS DAS VARIÁVEIS ABIÓTICAS + NÚMERO DE OVOS PARASITADOS NA VARIÁVEL NÚMERO DE OVOS COLETADOS. OS MODELOS COMBINARAM AS VARIÁVEIS NÚMERO DE OVOS PARASITADOS (OP), MÉDIA DA AMPLITUDE TÉRMICA (AMPL), MÉDIA DA PRECIPITAÇÃO (PRECIP), MÉDIA DA UMIDADE RELATIVA (UR). K= NÚMERO DE PARÂMETROS ESTIMADOS, LOGLIK = PROBABILIDADE LOGARÍTIMICA, AICC= VALOR DE AKAIKE CORRIGIDO, Δ AICC =DIFERENÇA ENTRE O VALOR DE AICC DE CADA MODELO E O MENOR VALOR DE AICC OBTIDO, w Δ AICC = PESO DE AKAIKE CORRIGIDO.

A) Safra 2017/2018					
Modelo	k	logLik	AICc	Δ AICc	w Δ AICc
Op + Ampl	4	-49,123	112,90	0,00	0,964
Op + Ampl + Precip	5	-48,749	119,50	6,59	0,036
Op + Ampl + Precip + Ur	6	-48,705	130,40	17,50	0,000
B) Safra 2018/2019					
Ur	3	-57,782	125,00	0,00	0,918
Precip + Ur	4	-57,601	129,90	4,88	0,080
Ampl + Precip + Ur	5	-57,595	137,20	12,20	0,002
Op + Ampl + Precip + Ur	6	-57,595	148,20	23,30	0,000
C) Safra 2019/2020					
Op + Ur	4	-63,147	141,00	0,000	0,973
Op + Ampl + Ur	5	-63,056	148,10	7,15	0,027
Op + Ampl + Precip + Ur	6	-62,413	157,80	16,87	0,000

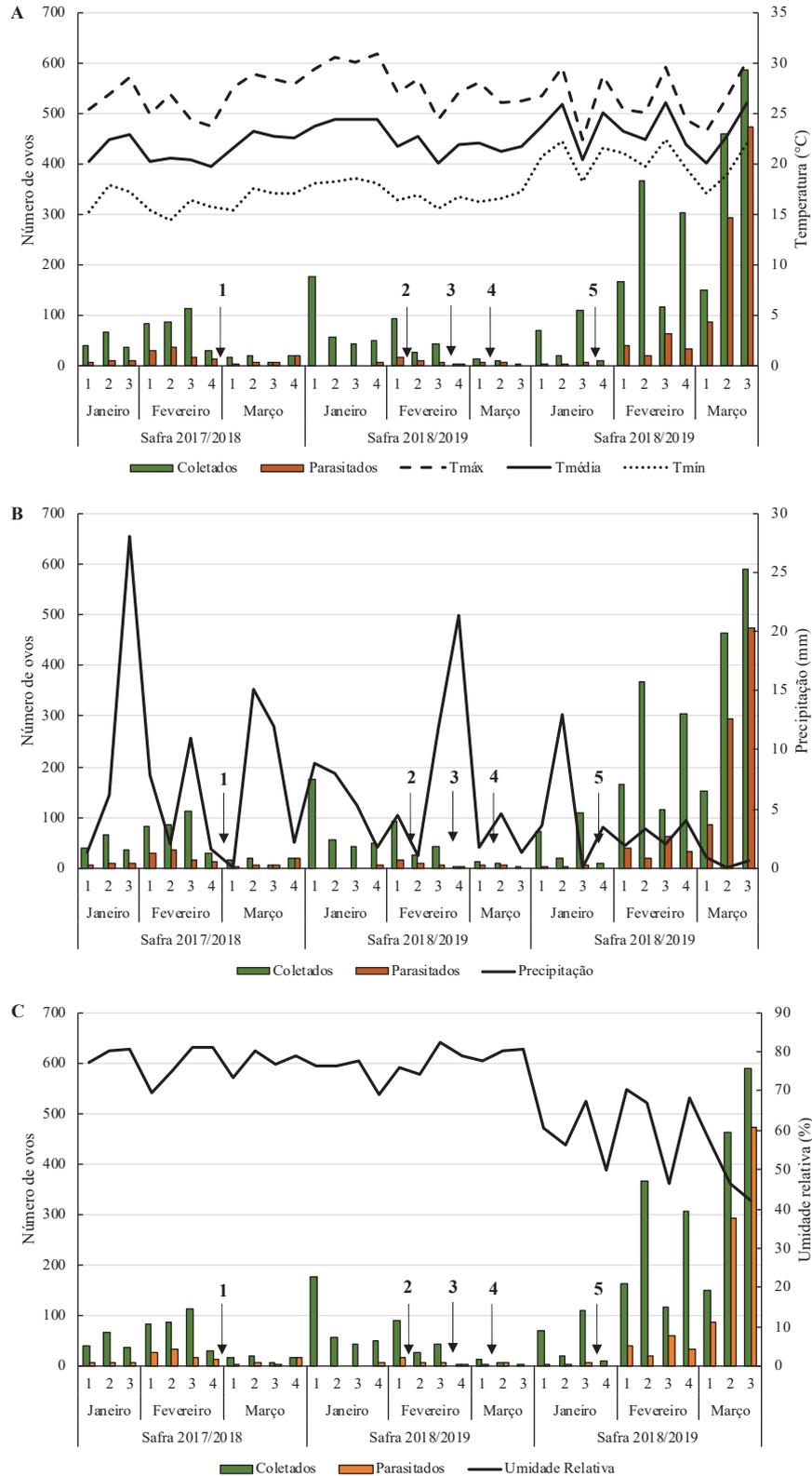
FONTE: O autor (2021).

TABELA 2 - MODELOS SIMPLIFICADOS QUE AVALIARAM OS EFEITOS DAS VARIÁVEIS ABIÓTICAS NA VARIÁVEL NÚMERO DE OVOS PARASITADOS. OS MODELOS COMBINARAM AS VARIÁVEIS: MÉDIA DA AMPLITUDE TÉRMICA (AMPL), MÉDIA DA PRECIPITAÇÃO (PRECIP), MÉDIA DA UMIDADE RELATIVA (UR). K= NÚMERO DE PARÂMETROS ESTIMADOS, LOGLIK = PROBABILIDADE LOGARÍTIMICA, AICC= VALOR DE AKAIKE CORRIGIDO, Δ AICC =DIFERENÇA ENTRE O VALOR DE AICC DE CADA MODELO E O MENOR VALOR DE AICC OBTIDO, w Δ AICC = PESO DE AKAIKE CORRIGIDO.

A) Safra 2017/2018					
Modelo	k	logLik	AICc	Δ AICc	w Δ AICc
Ur	3	-39,623	88,70	0,00	0,911
Ampl + Ur	4	-39,352	93,40	4,70	0,087
Ampl + Ur + Precip	5	-39,338	100,70	12,00	0,002
B) Safra 2018/2019					
Ampl + Ur	4	-31,271	77,20	0,00	0,970
Ampl + Ur + Precip	5	-31,095	84,20	6,98	0,030
C) Safra 2019/2020					
Ampl + Precip	4	-65,078	144,80	0,00	0,949
Ampl + Ur + Precip	5	-64,325	150,70	5,83	0,051

FONTE: O autor (2021).

FIGURA 2 - NÚMERO DE OVOS COLETADOS E OVOS PARASITADOS EM RELAÇÃO A MÉDIA DOS FATORES ABIÓTICOS EM CADA SEMANA DE COLETA: (A) TEMPERATURA (°C) MÍNIMA, MÉDIA E MÁXIMA; (B) PRECIPITAÇÃO (MM), (C) UMIDADE RELATIVA (%). SETAS INDICAM PULVERIZAÇÃO COM INSETICIDAS: ^{1,2,3} ÁREA RR: AMPLIGO[®] (LAMBDA-CIALOTRINA + CLORANTRANILIPROLE) + MATCH[®] EC (LUFENUROM), ⁴ ÁREA RR: PROCLAIM[®] 50 (BENZOATO DE EMAMECTINA), ⁵ ÁREA BT: GALIL[®] SC (IMIDACLOPRIDO + BIFENTRINA).



FONTE: O autor (2021).

3.2 COMPARAÇÃO NO NÚMERO DE OVOS PARASITADOS ENTRE AS ÁREAS E INFLUÊNCIA DO PONTO DE COLETA.

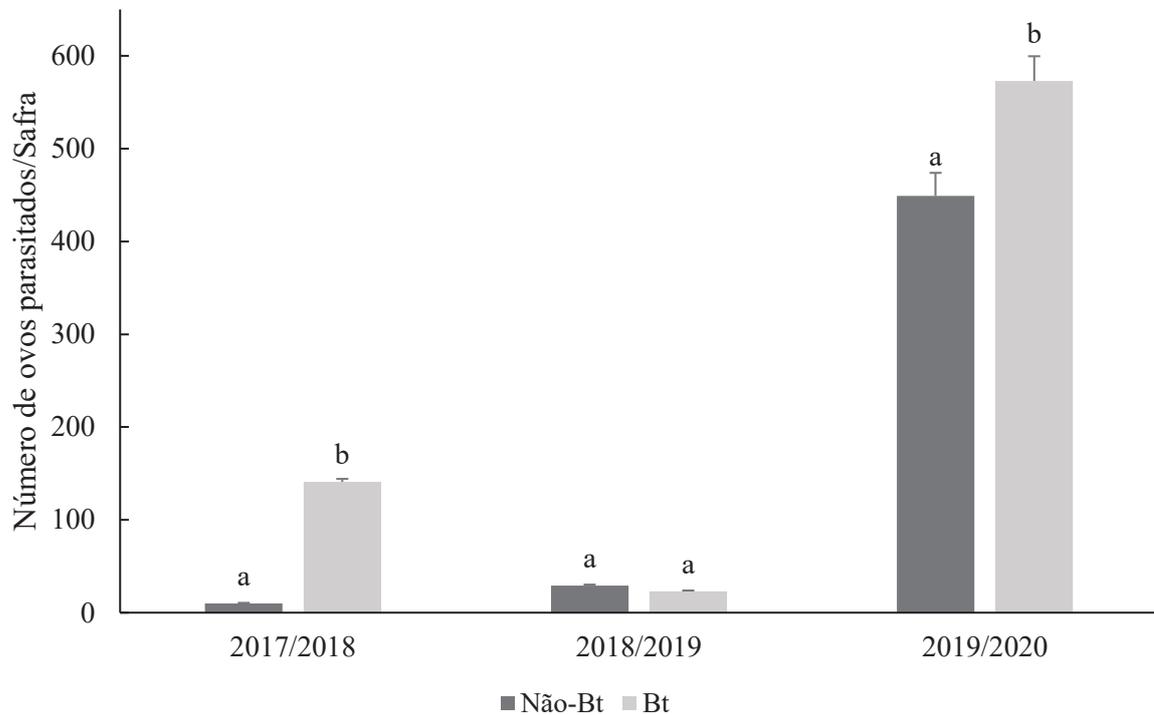
Na safra de 2017/2018, na área Bt foram coletados 384 ovos, dos quais 141 estavam parasitados (36,72%). Na área não-Bt, foram coletados 136 ovos e apenas 10 estavam parasitados (7,35%). A porcentagem de parasitismo na área Bt foi cerca de cinco vezes maior que na área não-Bt, com diferença significativa entre as áreas ($D_{1,20} = 135,71$, $\chi^2 = < 0,001$).

Na safra 2018/2019, 221 ovos foram coletados na área Bt dos quais apenas 23 estavam parasitados (10,41%). O número de ovos coletados na área não-Bt foi de 295, superior ao observado na safra anterior, mas apenas 29 ovos estavam parasitados (9,83%), não havendo diferenças significativas na comparação entre o número de ovos parasitados nas duas áreas ($D_{1,20} = 0,69$, $\chi^2 = 0,405$).

Na safra 2019/2020, o número de gaiolas dispostas no campo foi o dobro em relação aos anos anteriores. O aumento do número amostral juntamente com a influência da amplitude térmica e da precipitação durante o período de coleta provavelmente contribuíram para o aumento do número de ovos parasitados. Na área Bt, 1352 ovos foram coletados sendo que 573 (42,38%) estavam parasitados. Na área não-Bt, 1014 ovos foram coletados e destes 449 estavam parasitados (44,28%). O número de ovos parasitados, não apresentou diferenças estatísticas entre as duas áreas ($D_{1,20} = 15,08$, $\chi^2 = < 0,001$).

Em nenhuma postura de *S. eridania* oriunda das 110 armadilhas instaladas durante as duas primeiras safras foi observado parasitismo. Foram coletadas 37 posturas de *S. cosmioides* (18 na área não-Bt e 19 na área Bt) e três de *Peridroma saucia* na área Bt, e dessas, uma postura de *S. cosmioides* e uma de *P. saucia* provenientes da área Bt na safra 2018/2019 estavam parasitadas.

FIGURA 3 - NÚMERO DE OVOS PARASITADOS (\pm ERRO PADRÃO) EM RELAÇÃO À SAFRA DE COLETA. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NÃO DIFEREM ENTRE SI POR ANÁLISE DE VARIÂNCIA ($\alpha=5\%$).



FONTE: O autor (2021).

A posição das gaiolas onde foram coletados os ovos (Tabela 3) influenciou no número de ovos parasitados na safra 2017/2018 na área Bt ($\chi^2_{4,50} = 22,13$; $P < 0,001$), sendo que na gaiola G1 (Figura 1 - A) foram coletados cerca de 32% dos ovos e na G3 aproximadamente 27%. Na área não-Bt apesar do baixo parasitismo em comparação com a área Bt, houve influência do ponto de coleta ($\chi^2_{3,40} = 14,13$; $P = 0,003$), sendo que 40% dos ovos foram oriundos da gaiola G1 (Figura 1; Tabela 3).

Na safra 2018/2019 na área Bt, a distribuição dos ovos parasitados foi significativamente diferente entre os pontos de coleta ($\chi^2_{3,40} = 31,83$; $P < 0,001$), onde mais de 90% dos ovos parasitados foram provenientes das gaiolas G2 e G3. Já na área não-Bt, não houve diferença estatística entre as gaiolas ($\chi^2_{3,40} = 0,64$; $P = 0,888$).

No terceiro ano de coleta (2019/2020), tanto para a área Bt ($\chi^2_{9,100} = 315,37$; $P < 0,001$), quanto para a área não-Bt ($\chi^2_{8,90} = 331,19$; $P < 0,001$), houve diferenças significativas entre as gaiolas. As gaiolas G10 da área Bt e G9 na área não-Bt localizadas nas bordas de um fragmento de floresta nativa foram as que apresentaram maior expressividade, com respectivos 209 e 206 ovos parasitados.

TABELA 3 - MÉDIA DE OVOS PARASITADOS (\pm ERRO PADRÃO) EM RELAÇÃO AS PONTOS DE DISTRIBUIÇÃO DAS GAIOLAS EM DUAS ÁREAS (Bt e não-Bt) NO MUNICÍPIO DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS (25°36'49"S, 49°08'01"W), NO ESTADO DO PARANÁ, DURANTE OS MESES DE JANEIRO A MARÇO NAS SAFRAS 2017/2018, 2018/2019 E 2019/2020 DA CULTURA DA SOJA. VALORES ENTRE PARÊNTESES INDICAM O NÚMERO TOTAL DE OVOS PARASITADOS COLETADOS POR GAIOLA.

Gaiola	2017/2018		2018/2019		2019/2020	
	Não-Bt	Bt	Não-Bt	Bt	Não-Bt	Bt
G1	0,36 \pm 0,28 a (4)	4,09 \pm 1,97 a (45)	0,64 \pm 0,36 a (7)	0,09 \pm 0,09 b (1)	0,36 \pm 0,28 c (4)	8,91 \pm 5,94 ab (98)
G2	0	1,45 \pm 0,80 b (16)	0,55 \pm 0,28 a (6)	1,18 \pm 0,57 a (13)	1,45 \pm 0,69 bc (16)	6,18 \pm 3,38 ab (68)
G3	0,09 \pm 0,09 b (1)	3,45 \pm 1,73 ab (38)	0,64 \pm 0,47 a (7)	0,73 \pm 0,73 ab (8)	2,45 \pm 1,38 bc (27)	1,45 \pm 1,36 bc (16)
G4	0,27 \pm 0,27 ab (3)	2,09 \pm 0,72 b (23)	0,82 \pm 0,82 a (9)	0,09 \pm 0,09 b (1)	2,91 \pm 2,23 bc (32)	1,82 \pm 0,58 bc (20)
G5	0,18 \pm 0,12 ab (2)	1,73 \pm 0,86 b (19)	0	0	9,55 \pm 6,41 b (105)	0,27 \pm 0,14 c (3)
G6	-	-	-	-	3,73 \pm 2,81 b (41)	2,91 \pm 2,81 abc (32)
G7	-	-	-	-	0,64 \pm 0,31 bc (7)	2,27 \pm 1,08 abc (25)
G8	-	-	-	-	1,00 \pm 0,82 ab (11)	2,73 \pm 1,02 abc (30)
G9	-	-	-	-	18,73 \pm 12,03 a (206)	3,26 \pm 3,26 abc (72)
G10	-	-	-	-	0	19,0 \pm 15,33 a (209)

Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

FONTES: O autor (2021).

3.3 ESPÉCIES COLETADAS E ÍNDICES DE DIVERSIDADE

Durante o período de janeiro a março nas três safras foram coletados 3422 ovos em ambas as áreas, dos quais 1225 (35,8%) estavam parasitados, sendo 37,76% na área Bt e 33,77% na área não-Bt. Uma postura de *S. cosmioides* e outra de *P. saucia* encontradas nas plantas fora das gaiolas na área Bt estavam parasitadas.

Do total de ovos parasitados, identificaram-se ao nível de gênero/espécie (Tabela 4) cerca de 848 indivíduos (69,11%), pertencentes a três famílias: Aphelinidae (0,12%) com ocorrência de apenas um indivíduo na safra 2017/2018 na área não-Bt, Platygasteridae (2,36%) com possivelmente seis diferentes espécies, e tendo sido coletados em três hospedeiros diferentes, e a família predominante Trichogrammatidae (97,52%) com sete espécies. Do total de indivíduos que não foram identificados ao nível de espécie (30,89%), todos pertencem à família Trichogrammatidae.

Todos os indivíduos da família Platygasteridae pertencem ao gênero *Telenomus* Haliday (Tabela 4). No primeiro ano de coleta duas novas espécies foram coletadas em ovos de *A. gemmatalis* na área Bt, *Telenomus* sp. 1 e *Telenomus* sp. 2 e estão em processo final de descrição. No segundo ano de coleta, não houve ocorrência de *Telenomus* spp. em ovos de *A. gemmatalis* coletados nas gaiolas, no entanto, uma postura de *S. cosmioides* e outra de *P. saucia* coletadas nas folhas de soja fora das gaiolas, na área Bt estavam parasitadas. Da postura de *S. cosmioides* os adultos que emergiram foram montados em meio de Hoyer e através da identificação morfológica e molecular pela região do gene COI foi constatada a primeira ocorrência natural de *Telenomus remus* Nixon no Sul do Brasil. As espécies *Telenomus* sp. 3 nov e *Telenomus* sp. 5 oriundas da área Bt e *Telenomus* sp. 4 da área não-Bt, já passaram pelo processo de extração do DNA e amplificação do gene COI e seguem em processo de descrição; no entanto é possível afirmar haver ao menos mais uma espécie nova nessa amostra. Através dos estimadores de dados ecológicos (Tabela 5), a ocorrência dessas espécies é não dominante e de constância acidental.

TABELA 4 - NÚMERO DE INDIVÍDUOS POR ESPÉCIES DE PARASITÓIDES DE OVOS DA FAMÍLIA APHELINIDAE, PLATYGASTRIDAE E TRICHOGRAMMATIDAE COLETADOS EM DUAS ÁREAS (Bt E NÃO-Bt) NO MUNICÍPIO DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS (25°36'49"S, 49°08'01"W), NO ESTADO DO PARANÁ, DURANTE OS MESES DE JANEIRO A MARÇO NAS SAFRAS 2017/2018, 2018/2019 E 2019/2020 DA CULTURA DA SOJA.

Lista de espécies	Hospedeiro	Safr 2017/2018		Safr 2018/2019		Safr 2019/2020	
		Bt	Não-Bt	Bt	Não-Bt	Bt	Não-Bt
<i>Encarsia</i> sp.	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	-	1	-	-	-	-
<i>Telenomus remus</i>	<i>Spodoptera cosmioides</i>	-	-	1	-	-	-
<i>Telenomus</i> sp1 nov.	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	6	-	-	-	-	-
<i>Telenomus</i> sp2 nov.	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	5	-	-	-	-	-
<i>Telenomus</i> sp3 nov.	<i>Periodroma saucia</i>	-	-	1	-	-	-
<i>Telenomus</i> sp4	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	-	-	-	-	-	5
<i>Telenomus</i> sp5	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	-	-	-	-	2	-
<i>Trichogramma acacioi</i>	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	38	5	4	1	325	55
<i>Trichogramma atopovirilia</i>	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	26	1	5	-	12	133
<i>Trichogramma bruni</i>	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	16	-	5	-	12	60
<i>Trichogramma foersteri</i>	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	-	1	-	-	-	-
<i>Trichogramma lasallei</i>	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	2	-	-	-	3	-
<i>Trichogramma pretiosum</i>	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	29	2	1	24	25	46
<i>Trichogramma rojasi</i>	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	3	-	3	-	-	-
<i>Trichogramma</i> spp.	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	26	-	5	4	194	150

FONTE: O autor (2021).

Das espécies do gênero *Trichogramma*, *T. acacioi* e *T. pretiosum* foram as espécies de maior dominância na área Bt (Tabela 5) pois apresentaram valores de frequência superior ao valor de dominância (> 9,09) calculado para a amostra da área, e também as espécies de maior constância no decorrer do levantamento, estando presentes em mais de 50% das datas amostrais. Na área não-Bt (Tabela 5), *T. acacioi*, *T. atopovirilia*, *T. bruni* e *T. pretiosum* foram as espécies com dominância (frequência > 14,29), no entanto, somente *T. acacioi* e *T. pretiosum* foram enquadradas como espécies de ocorrência constante. Para ambas as áreas *T. atopovirilia* foi considerada como espécie acessória, e *T. bruni* apesar de apresentar uma alta frequência no levantamento na área não-Bt, sua ocorrência foi acidental. As demais espécies: *Encarsia* sp., *T. foersteri*, *T. lasallei* e *T. rojasi* foram consideradas como acidentais e não dominantes para ambas as áreas, e *T. bruni* para a área Bt.

TABELA 5 – ÍNDICE FAUNÍSTICO E DIVERSIDADE DE ESPÉCIES DE PARASITÓIDES DE OVOS COLETADOS NA CULTURA DA SOJA NOS PERÍODOS DE JANEIRO A MARÇO NAS SAFRAS DE 2017/2018, 2018/2019 E 2019/2020 NO MUNICÍPIO DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS (25°36'49"S, 49°08'01"W), NO ESTADO DO PARANÁ.

Espécie	Bt				Não-Bt			
	A	F	C ¹	D ²	A	F	C ¹	D ²
<i>Encarsia</i> sp.	-	-	-	-	1	0,30	z	nd
<i>Telenomus remus</i>	1	0,19	z	nd	-	-	-	-
<i>Telenomus</i> sp1 nov.	6	1,17	z	nd	-	-	-	-
<i>Telenomus</i> sp2 nov.	5	0,97	z	nd	-	-	-	-
<i>Telenomus</i> sp3 nov.	1	0,19	z	nd	-	-	-	-
<i>Telenomus</i> sp4	-	-	-	-	4	1,50	z	nd
<i>Telenomus</i> sp5	2	0,39	z	nd	-	-	-	-
<i>Trichogramma acacioi</i>	367	71,40	x	d	61	18,26	x	d
<i>Trichogramma atopovirilia</i>	33	6,42	y	nd	134	40,12	y	d
<i>Trichogramma bruni</i>	33	6,42	z	nd	60	17,96	z	d
<i>Trichogramma foersteri</i>	-	-	-	-	1	0,30	z	nd
<i>Trichogramma lasallei</i>	5	0,97	z	nd	-	-	-	-
<i>Trichogramma pretiosum</i>	55	10,70	x	d	72	21,56	x	d
<i>Trichogramma rojasi</i>	6	1,17	z	nd	-	-	-	-
S		11				7		
H'		1,07 b				1,41 a		
D'		0,47 b				0,73 a		
J		0,45				0,73		

A = abundância; F = frequência; C = constância; D = dominância; S = riqueza; H' = índice de Shannon-Weiner; D' = índice de diversidade de Simpson; J = índice de equidade de Pielou.

¹Status de constância onde: espécie constante (x), acessória (y) e acidental (z).

²Espécie dominante (d), não dominante (nd).

FONTE: O autor (2021).

A maior riqueza de espécies de parasitoides foi observada para a área Bt (Tabela 5), onde 11 espécies foram coletadas durante as três safras avaliadas. No entanto, apesar de apresentar maior riqueza, a maior diversidade de espécies foi observada na área não-Bt, tanto para o índice de Shannon-Weiner ($t = -5,20$, $df = 797,17$, $P < 0,001$) quanto para o índice de diversidade de Simpson ($t = 8,93$, $df = 721,29$, $P < 0,001$). Além disso, o índice de equabilidade de Pielou indicou que a área não-Bt apresenta maior uniformidade na distribuição dos indivíduos.

4 DISCUSSÃO

Parasitoides de ovos foram coletados nas duas áreas ao longo das três safras avaliadas. O parasitismo natural foi favorecido pela baixa precipitação e pelas menores oscilações de amplitude térmica. Com exceção da temperatura, a influência de outros fatores abióticos em parasitoides de ovos é pouco estudada. Dequech et al. (2013) observaram que mais ovos de *S. frugiperda* foram depositados e estavam disponíveis ao parasitismo por *Trichogramma* spp. em períodos onde a precipitação estava baixa. Em laboratório, Coelho Junior, Stouthamer e Parra (2016) avaliaram a relação da propensão de voo de cinco isolinhagens de *T. pretiosum* oriundas da região da Califórnia (EUA) e uma da região de Piracicaba (BR), em relação a duas taxas de umidade relativa (70 e 30%), e concluíram que a isolinhagem brasileira foi afetada pelas altas condições de UR em comparação com condições de baixa UR, enquanto as isolinhagens da Califórnia não foram afetadas pelas duas condições testadas. O desempenho de espécies coletadas no Sul do Brasil em relação a diferentes temperaturas foi avaliado por Foerster, Marchioro e Foerster (2014); os autores discutem que *T. pretiosum* e *T. atopovirilia* são espécies bem adaptadas a diferentes temperaturas, já *T. acacioi* demonstrou melhor tolerância a baixas temperaturas, enquanto *T. lasallei* e *T. rojasi* apresentaram menores fecundidades e sobrevivência independente da temperatura avaliada. Esses resultados explicam a maior abundância de *T. pretiosum* e *T. atopovirilia* em relação a *T. lasallei* e *T. rojasi* observada em campo por Avanci, Foerster e Cañete (2005).

As cultivares semeadas na área Bt possuem a proteína Cry1Ac para o controle de *A. gemmatilis* o que limita o estabelecimento dessa espécie em cultivos com essa tecnologia. O uso de plantas geneticamente modificadas que expressam proteínas tóxicas, assim como o controle químico, afetam a densidade populacional de inimigos naturais ao reduzir a disponibilidade de hospedeiros (O'CALLAGHAN et al., 2005). Além disso, as culturas transgênicas tolerantes à aplicação de herbicidas e resistentes ao ataque de insetos-alvo modificam a composição e a dinâmica das paisagens regionais, pois além de diminuir a densidade de hospedeiros disponíveis pela erradicação de plantas daninhas, alteram a vegetação remanescente, a qual desempenha uma função essencial para as populações de inimigos naturais através do fornecimento de recursos nutricionais (pólen e nectar) e de habitat (LUNDGREN et al., 2009). Assim, o alto número de ovos parasitados na área Bt, pode ser atribuído à presença de fragmentos de vegetação no entorno da área avaliada, que servem de abrigo para parasitoides, e quando há ovos disponíveis, estes podem ser dispersar e encontrar esses hospedeiros no interior da cultura. A vegetação natural em paisagens agrícolas tem sido

associada a um melhor controle de pragas, pois fornecem refúgio e conseqüentemente maior abundância e diversidade de inimigos naturais (THIES et al., 2011).

Embora as culturas transgênicas Bt evitem o estabelecimento de pragas-alvo suscetíveis, elas não impedem a oviposição das mariposas nessas plantas (TORRES; RUBERSON, 2006; LUONG et al., 2016). Estudos apontam haver uma preferência por oviposição em plantas Bt do que em plantas não-Bt devido ao nível de dano ser inferior nessas plantas o que as tornam mais atrativas para a oviposição (TÉLLEZ-RODRIGUEZ et al., 2014; JIAO et al., 2018; NASCIMENTO et al., 2020). Portanto, mesmo em lavouras geneticamente modificadas, pode haver disponibilidade de ovos de espécies alvo e espécies oportunistas, favorecendo a sobrevivência de parasitoides de ovos nessas cultivares.

No presente estudo não estratificamos o efeito da paisagem na porcentagem de ovos parasitados encontrados nas duas áreas; Liu et al. (2016) avaliaram o parasitismo de *Trichogramma chilonis* Ishii em ovos de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes paisagens e constataram que a taxa de parasitismo foi superior em paisagens compostas por maior diversidade do que em paisagens onde há predomínio de monoculturas como algodão e milho. Yang et al. (2005), registraram um baixo nível de parasitismo em ovos de *H. armigera* por *Trichogramma confusum* Viggiani em algodão Bt (Cry1Ac) em relação ao algodão convencional, e atribuíram o resultado à possibilidade de parasitoides visitarem menos as áreas transgênicas. Estes autores sugerem que o resultado observado pode ter sido decorrente de uma possível interferência no comportamento e capacidade de busca dos parasitoides ocasionada pelas diferenças nos voláteis produzidos entre plantas de algodão Bt e não-Bt. Entretanto, Moraes et al. (2011) avaliaram a interação tritrófica de *S. frugiperda* e *T. pretiosum* em uma variedade de algodão Bt (Cry1Ac) e na sua isolinhagem e concluíram que o parasitoide não diferenciou a variedade transgênica da não-transgênica. Leite, Redaelli e Sant'Ana (2020) não constataram diferenças na resposta olfatória de *T. pretiosum* aos voláteis emitidos pela oviposição de *S. frugiperda* em plantas de soja Bt (Cry1Ac) e não-Bt, tampouco no desempenho e na preferência de oviposição do parasitoide em ovos de mariposas que durante a fase imatura se alimentaram desses dois hospedeiros, sugerindo que não há efeitos diretos ou indiretos do Bt em *T. pretiosum*.

As avaliações realizadas em laboratório podem ajudar a entender o comportamento das espécies, mas não podem determinar o seu comportamento em campo, uma vez que existem diversos outros fatores que podem estar agindo de forma isolada ou em conjunto e estar favorecendo ou não determinadas espécies (ROMEIS et al., 2005). No entanto, sabe-se que um dos fatores que pode determinar o sucesso de um programa de controle biológico é a utilização

de espécies nativas de parasitoides de ovos, especialmente para o gênero *Trichogramma*, pois estas estão bem adaptadas a hospedeiros específicos e seus ambientes naturais (HASSAN, 1994; SMITH, 1996). Das espécies coletadas em maior abundância, *T. acacioi* e *T. pretiosum* foram dominantes e apresentaram constância nas coletas no levantamento das duas áreas avaliadas. *Trichogramma acacioi* é comumente associada com lepidópteros em ambientes florestais (QUERINO; ZUCCHI, 2019), e a sua ocorrência reforça a hipótese de que os fragmentos florestais tiveram influência na porcentagem de parasitismo. Já *T. pretiosum* é uma das espécies mais comuns encontradas em levantamentos (QUERINO; SILVA; ZUCCHI, 2016; SOUZA et al., 2016), e é comumente coletada em habitats agrícolas e em ambientes com perturbações (QUERINO; ZUCCHI, 2019). Na área não-Bt, *T. atopovirilia* e *T. bruni* também foram classificadas como dominantes, e assim como *T. acacioi*, *T. bruni* é associada a ambientes florestais e também é encontrada em pomares de frutíferas (QUERINO; ZUCCHI, 2002; QUERINO et al., 2017), enquanto *T. atopovirilia* é encontrada tanto em culturas anuais quanto em reservas naturais (ZUCCHI et al., 2010).

Com exceção de *T. foersteri* que foi coletada pela primeira vez no presente estudo, as demais espécies de *Trichogramma* coletadas em um único local, equivalem às espécies coletadas por Avanci, Foerster e Cañete (2005) e Dudczak et al. (2017) em três pontos diferentes do sudeste do Paraná (Lapa, Fazenda Rio Grande e Pinhais).

Previamente a este estudo, dentro do gênero *Telenomus*, somente *T. cyamophylax* Polaszek (Hymenoptera: Platygasteridae) havia sido registrada parasitando ovos de *A. gemmatalis* na cultura da soja (POLASZEK; FOERSTER, 1997). Duas novas espécies de *Telenomus* procedentes da área Bt (*Te. sp.1* e *sp.2*) estão em processo de publicação, e outras duas (*Te. sp.4* e *sp.5*) coletadas tanto da área não-Bt quanto da Bt seguem em análise morfológica e molecular. Durante o levantamento de lagartas, realizado paralelamente ao levantamento de parasitoides, o primeiro registro de ocorrência de *Peridroma saucia* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) foi constatado nas cultivares de soja não-Bt e soja Bt (TAKAHASHI et al., 2019). Das coletas de posturas encontradas naturalmente em campo, uma espécie de *Telenomus* (*sp.3* nov.) emergiu de uma postura de *P. saucia* e segue em processo de descrição.

Além das descobertas de novas espécies de *Telenomus* e uma de *Trichogramma*, destaca-se a confirmação da identidade de *T. remus* coletada naturalmente na área Bt em uma postura de *S. cosmioides*, pois *T. remus* é uma espécie que apresenta grande potencial no controle de espécies do complexo *Spodoptera* (POMARI et al., 2012), e apesar das tentativas de estabelecimento dessa espécie em campo, até então não havia sido recapturada (NARANJO-GUEVARA et al., 2018). Hay-Roe et al. (2015) descrevem que liberações de *T. remus* foram

realizadas no sul da Flórida nos Estados Unidos entre 1975-1977 e novamente em 1988-1989, no entanto em nenhuma das ocasiões constataram o estabelecimento do parasitoide. No entanto, em 2009 e 2013 na região centro-norte da Flórida, a cerca de 500 km de distância das liberações iniciais, massas de ovos sentinelas de *S. frugiperda* registraram o parasitismo por uma espécie de *Telenomus* e as evidências sugerem se tratar de *T. remus*. A captura de *T. remus* no presente estudo, em um local onde previamente não houve nenhuma liberação do parasitoide, demonstra que esta espécie se adaptou às condições geoclimáticas da região.

Das 14 espécies de parasitoides de ovos coletadas e identificadas nas duas áreas, sete foram coletadas apenas na área Bt, e três apenas na área não-Bt. No entanto, apesar da área Bt apresentar maior riqueza, a diversidade de espécies foi superior na área não-Bt, tanto para o índice de diversidade de Simpson onde as espécies raras desempenham um papel menor e as espécies comuns tem maior relevância, quanto no índice de Shannon-Wierner que leva em consideração a uniformidade da comunidade de espécies, e afere um peso igual às espécies raras e as abundantes. O índice de Pielou que é derivado do índice de Shannon-Wierner demonstra que a distribuição da comunidade de espécies presentes na área não-Bt é mais uniforme.

A diversidade de espécies de parasitoides de ovos encontrados no presente estudo, comprova a importância da preservação de fragmentos de vegetação natural em áreas agrícolas, uma vez que a intensificação da agricultura levou a uma mudança drástica nas paisagens devido ao aumento no tamanho dos campos aráveis, ocasionando a simplificação das paisagens agrícolas e deixando apenas pequenos fragmentos de habitats naturais (BIANCHI et al., 2006). Tal hipótese é corroborada por Massaroli, Butnariu e Doetzer (2014) no Mato Grosso, onde foram realizadas coletas durante duas safras na cultura da soja, sendo encontrada somente *T. pretiosum*, enquanto no presente estudo sete espécies de *Trichogramma* foram encontradas, além de *Telenomus* spp. Mato Grosso é o estado com maior produção de soja no país (CONAB, 2020), tendo como característica áreas agrícolas com dimensões extensivas e contínuas (GAZZONI, 2012), predominando a prática de monoculturas, o que torna a paisagem menos diversa (MASSAROLLI et al., 2018).

Menores oscilações de amplitude térmica e precipitação favoreceram a ocorrência de parasitoides dos ovos, e com base nos resultados obtidos nesse estudo e na literatura, é possível afirmar que de forma direta não houve impacto negativo de soja Bt nos parasitoides de ovos, uma vez que a incidência de parasitismo e a riqueza de espécies foram superiores em soja Bt do que em não-Bt; no entanto a área não-Bt apresentou maior diversidade e uniformidade na comunidade de espécies. Tais resultados podem estar associados à presença de fragmentos de

paisagem e da preservação da vegetação natural ao redor das lavouras. Nesse sentido, o plantio da área de refúgio em culturas Bt retarda e diminui a seleção de insetos resistentes, e também fornece abrigo, alimento e hospedeiros aos parasitoides e demais inimigos naturais.

REFERÊNCIAS

- AVANCI, M.R.F.; FOERSTER, L.A.; CAÑETE, C.L. Natural parasitism in eggs of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera, Noctuidae) by *Trichogramma* spp. (Hymenoptera, Trichogrammatidae) in Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.49, p.148-151, 2005.
- BARTÓN, K. 2020. MuMIn: Multi-model inference. R package version 1.43.17. Disponível em: <<https://CRAN.R-project.org/package=MuMIn>>.
- BERNAL, J.S. Genetically Modified Crops and Biological Control with Egg Parasitoids, p.443-465, in: CONSOLI, F.; PARRA, J.; ZUCCHI, R. Eds. **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on *Trichogramma***. Progress in biological control, Springer, Dordrecht, 2010.
- BERNARDI, O.D.; MALVESTITI, G.S.; DOURADO, P.M.; OLIVEIRA, W.S.; MARTINELLI, S.; BERGER, G.U.; HEAD, G.P.; OMOTO, C. Assessment of the high-dose concept and level of control provided by MON 87701 x MON 89788 soybean against *Anticarsia gemmatalis* and *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Pest Management Science**, v.68, p. 1083-1091, 2012.
- BERNARDI, O.; SORGATTO, R. J.; BARBOSA, A. D.; DOMINGUES, F. A.; DOURADO, P. M.; CARVALHO, R. A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G.P.; OMOTO, C. Low susceptibility of *Spodoptera cosmioides*, *Spodoptera eridania* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to genetically-modified soybean expressing Cry1Ac protein. **Crop Protection**, v. 58, p. 33-40, 2014.
- BIANCHI, F.J.J.A.; BOOIJ, C.J.H.; TSCHARNTKE, T. Sustainable pest regulation in agricultural landscapes: a review on landscape composition, biodiversity and natural pest control. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v.273, p.1715-1727, 2006.
- BODENHEIMER, F.S. **Problems of animal ecology**. Oxford, University Press: Londres, 179p., 1938.
- BORTOLOTTI, O.C.; SILVA, G.V.; BUENO, A.F.; POMARI, A.F.; MARTINELLI, S.; HEAD, G.P.; CARVALHO, R.A.; BARBOSA, G.C. Development and reproduction of *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) and its egg parasitoid *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) on the genetically modified soybean (Bt) MON 87701 x MON 89788. **Bulletin of Entomological Research**, v.104, p.724-730, 2014.
- BROOKES, G. The farm level economic and environmental contribution of Intacta soybeans in South America: the first years. **GM Crops & Food**, v.9, p. 140-151, 2018.
- BURNHAM, K.P.; ANDERSON, D.R. **Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach**. Springer, New York, 2002.
- CATARINO, R.; CEDDIA, G.; AREAL, F.J.; PARK, J. The impact of secondary pests on *Bacillus thuringiensis* (Bt) crops. **Plant Biotechnology Journal**, v.13, p.601-612, 2015.
- COELHO, A.; STOUTHAMER, R.; PARRA, J.R.P. Flight propensity of isofemale lines of *Trichogramma pretiosum* Riley in two relative humidity levels. **Florida Entomologist**, v.101, p.364-368, 2018.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira grãos. Décimo segundo levantamento safra 2019/20. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos/item/download/33275_6780e71910d3f0d489c5f171231b65cd> Acesso em: 07 de Nov. 2020.

DEQUECH, S.T.B.; CAMERA, C.; STURZA, V.S.; RIBEIRO, L.P.; QUERINO, R.B.; PONCIO, S. Population fluctuation of *Spodoptera frugiperda* eggs and natural parasitism by *Trichogramma* in maize. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.35, p.295-300, 2013.

DUDCZAK, A.; QUERINO, R.B.; FOERSTER, M.R.; FOERSTER, L.A. First occurrence of *Trichogramma bruni* Nagaraja (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitizing eggs of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Erebididae) in Brazil **Neotropical Entomology**, v. 46, p.471-472, 2017.

FOX, J.; WEISBERG, S. **An R companion to applied regression**. Sage, Thousand Oaks, CA, 3 edição, 608p. 2018.

FOERSTER, M.R.; MARCHIORO, C.A.; FOERSTER, L.A. Temperature-dependent parasitism, survival, and longevity of five species of *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) associated with *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, v.43, p.176-182, 2014.

FIGUEIREDO, M.L.C.; CRUZ, I.; SILVA, R.B.; FOSTER, E. (2015) Biological control with *Trichogramma pretiosum* increases organic maize productivity by 19.4%. **Agronomy for Sustainable Development**, v.25, p.1175–1183, 2015.

GAZZONI, D.L. **Perspectivas do manejo de pragas**. p. 789 – 829. In: HOFFMANN-CAMPO, SPALDING CORRÊA-FERREIRA, MOSCARDI, Eds. Manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. Embrapa, 2012. 859 p.

HAMMER, Ø.; HARPER, D.A.T.; RYAN, P.D. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia Electronica**, v.4, 9pp., 2001.

HARTING, F. DHARMA: residual diagnostics for hierarchical (multi-level-mixed) regression models. R. package, version 0.3.3.0. 2020. Disponível em: <<http://florianhartig.github.io/DHARMA/>>

HASSAN, S.A. **Strategies to select *Trichogramma* species for use in biological control**. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S.A. (Ed), Biological control with egg parasitoids. Wallingford: Cab International, p.55-73, 1994.

JIAO, Y.; HU, X.; PENG, Y.; WU, K.; ROMEIS, J.; LI, Y. Bt rice plants may protect neighbouring non-Bt rice plants against the striped stem borer, *Chilo suppressalis*. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 285, doi: 10.1098/rspb.2018.1283, 2018.

JACKMAN, S. pscl: Classes and Methods for R Developed in the Political Science Computational Laboratory, Stanford University. Department of Political Science, Stanford

University, Stanford, California. R package version 0.95, 2008, Disponível em: <<http://CRAN.R-project.org/package=pscl>>.

KENIS, M.; du PLESSIS, H.; VAN DEN BERG, J.; BA, M.N.; GOERGEN, G.; KWADJO, K.E.; BAOUA, I.; TEFERA, T.; BUDDIE, A.; CAFÀ, G.; OFFORD, L.; RWOMUSHANA, I.; POLASZEK, A. *Telenomus remus*, a candidate parasitoid for the biological control of *Spodoptera frugiperda* in Africa, is already present on the continent. **Insects**, 10:92, doi: 10.3390/insects10040092, 2019.

KINDT, R.; COE, R. Tree diversity analysis. **A manual and software for common statistical methods for common statistical methods for ecological and biodiversity studies**. Nairobi: World agroforestry centre, 196p., 2005.

KOTTEK, M.; GRIESER, J.; BECK, C.; RUDOLF, B.; RUBEL, F. World Map of the Köppen-Geiger climate classification updated. **Meteorologische Zeitschrift**, v.15, p.259-263, 2006.

KUTUK, H. Identification and natural parasitism of *Trichogramma* Species on *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) eggs in Düzce, Turkey. **Entomological News**, v.126, p.290-298, 2017.

LEITE, N.A.; REDAELLI, L.R.; SANT'ANNA, J. Fitness, acceptance and olfactory responses of *Trichogramma pretiosum* on eggs of *Spodoptera frugiperda* fed with Cry1Ac soybean. **Bulletin of Insectology**, v.73, p.217-224, 2020.

LENTH, R.V. Emmeans: estimated marginal means, aka Least-Squares Means. R package version 1.5.3. 2020. Disponível em: <<https://CRAN.R-project.org/package=emmeans>>

LIU, X.; CHEN, M.; COLLINS, H.L.; ONSTAD, D.W.; ROUSH, R.T.; ZHANG, Q.; EARLE, E.D.; SHELTON, A.M. Natural enemies delay insect resistance to Bt crops. **Plos One**, v.9, e90366, doi:10.1371/journal.pone.0090366, 2014.

LIU, B.; YANG, L.; YANG, F.; WANG, Q.; YANG, Y.; LU, Y.; GARDINER, M.M. Landscape diversity enhances parasitism of cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*) eggs by *Trichogramma chilonis* in cotton. **Biological Control**, v.93, p.15-23, 2016.

LU, Y.; WU, K.; JIANG, Y.; GUO, Y.; DESNEUX, N. Widespread adoption of Bt cotton and insecticide decrease promotes biocontrol services. **Nature**, v.487, p.362-365, 2012.

LUTTRELL, R.G.; WAN, L.; KNIGHTEN, K. Variation in susceptibility of noctuid (Lepidoptera) larvae attacking cotton and soybean to purified endotoxin proteins and commercial formulations of *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Economic Entomology**, v.92, p21-32, 1999.

LUNDGREN, J.G.; GASSMANN, A.J.; BERNAL, J.; DUAN, J.J.; RUBERSON, J. Ecological compatibility of GM crops and biological control. **Crop Protection**, v.28, p.1017-1030, 2009.

MACHADO, E.P.; RODRIGUES JUNIOR, G.L.S.; SOMAVILLA, J.C.; FÜHR, F.B.; ZAGO, S.L.; MARQUES, L.H.; SANTOS, A.C.; NOWATZKI, T.; DAHMER, M.L.; OMOTO, C.; BERNARDI, O. Survival and development of *Spodoptera eridania*, *Spodoptera cosmioides*

and *Spodoptera albula* (Lepidoptera: Noctuidae) on genetically-modified soybean expressing Cry1Ac and Cry1F proteins. **Pest Management Science**, doi: 10.1002/ps.5955, 2020.

MASSAROLI, A.; BUTNARIU, A.R.; DOETZER, A.K. Occurrence of *Trichogramma* parasitoids in eggs of soybean lepidopteran pests in Mato Grosso, Brazil. **International Journal of Biology**, v.6, p.97-103, 2014.

MASSAROLLI, A.; HOFFMANN, A.R.L.; FAVETTI, B.M.; BUTNARIU, A.R. Ichneumonids (Hymenoptera) and Tachinid flies (Diptera) associated to lepidopterans in soybean crops. **Journal of Agricultural Science**, v.10, p. 167-173, 2018.

MORAES, M.C.B.; LAUMANN, R.A.; AQUINO, M.F.S.; PAULA, D.P.; BORGES, M. Effect of Bt genetic engineering on indirect defense in cotton via a tritrophic interaction. **Transgenic Research**, v.20, p.99-107, 2011.

MOSCARDI, F.; BUENO, A.F.; SOSA-GÓMEZ, D.R.; ROGGIA, S.; HOFFMANN-CAMPO, C.B.; POMARI, A.F.; CORSO, I.C.; YANO, S.A.C. Artrópodes que atacam as folhas da soja, p. 213-334, in: HOFFMANN-CAMPO, SPALDING CORRÊA-FERREIRA, MOSCARDI, Eds. **Manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Embrapa, 2012. 859 p.

NARANJO-GUEVARA, N.; SANTOS, L.A.O.; BARBOSA, N.C.C.P.; CORRÊA e CASTRO, A.C.M.; FERNANDES, O.A. Long-term mass rearing impacts performance of the egg parasitoid *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae). **Journal of Entomological Science**, v.55, p.69-86, 2018.

NASCIMENTO, P.T.; VON PINHO, R.G.; FADINI, M.A.M.; SOUZA, C.S.F.; VALICENTE, F.H. Does singular and stacked corn affect choice behavior for oviposition and feed in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)? **Neotropical Entomology**, v.49, p.302-310, 2020.

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

PARRA, J.R.P.; COELHO JUNIOR, A. Applied biological control in Brazil: from laboratory assays to field application. **Journal of Insect Science**, v.19, p.1-6, 2019.

POLASZEK, A.; FOERSTER, L.A. *Telenomus cyamophylax*, n. sp. (Hymenoptera: Scelionidae) attacking eggs of the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.26, p.177-181, 1997.

POMARI, A.F.; BUENO, A.F.; BUENO, R.C.O.F.; MENEZES JUNIOR, A.O. Biological characteristics and thermal requirements of the biological control agent *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) reared on eggs of different species of the genus *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v.105, p.73-81, 2012.

QUERINO, R.B.; ZUCCHI, R.A. Intraspecific variation in *Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) associated with different hosts. **Brazilian Journal of Biology**, v.64, p.665-679, 2002.

QUERINO, R.B.; ZUCCHI, R.A. **Guia de identificação de Trichogramma para o Brasil**. Brasília, DF: Embrapa, 103p., 2012.

QUERINO, R.B.; SILVA, N.N.P.; ZUCCHI, R.A. Natural parasitism by *Trichogramma* spp. in agroecosystems of the mid-north, Brazil. **Ciência Rural**, v.46, p.1521-1523, 2016.

QUERINO, R.B.; MENDES, J.V.; COSTA, V.A.; ZUCCHI, R.A. New species, notes and new records of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in Brazil. **Zootaxa**, v.4232, p.137-143, 2017.

QUERINO, R.B.; ZUCCHI, R.A. Annotated checklist and illustrated key to the species of *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) from South America. **Zootaxa**, v.4656, p.201-231, 2019.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>, 2019.

RAZINGER, J.; VASILEIADIS, V.P.; GIRAUD, M.; VAN DIJK, W.; SATTIN, M.; UREK, G. On-farm evaluation of inundative biological control of *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae) by *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in three European maize-producing regions. **Pest Management Science**, v.72, p.246-254, 2016.

RITCHIE, S.; HANWAY, J.J.; THOMPSON, H.E. **How a soybean plant develops**. Ames: Iowa State University of Science and Technology: Cooperative extension. 20p., 1985.

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**, v.6, p.215-236, 2005.

ROMEIS, J.; NARANJO, S.E.; MEISSE, M.; SHELTON, A.M. Genetically engineered crops help support conservation biological control. **Biological Control**, v.130, p.136-154, 2019.

SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; VILLA NOVA, N.A. **Manual de ecologia dos insetos**. Piracicaba: Ceres, 419p., 1976.

SHEPARD, M.; CARNER, G.R.; TURNISPEED, S.G. A comparison of three sampling methods for arthropods in soybeans. **Environmental Entomology**, v.3, p.227-232, 1974.

SMITH, S.M. Biological control with *Trichogramma*: Advances, successes and potential of their use. **Annual Review of Entomology**, v.41, p.375-406, 1996.

SOUZA, A.R.; GIUSTOLIN, T.A.; QUERINO, R.B.; ALVARENGA, C.D. Natural parasitism of lepidopteran eggs by *Trichogramma* species (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in agricultural crops in Minas Gerais, Brazil. **Florida Entomologist**, v.99, p.221-225, 2016.

TAKAHASHI, T.A.; NISHIMURA, G.; CARNEIRO, E.; FOERSTER, L.A. First record of *Peridroma saucia* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) in transgenic soybeans. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.63, p.199-201, 2019.

TÉLLEZ-RODRÍGUEZ, P.; RAYMOND, B.; MÓRAN-BERTOT, I.; RODRÍGUEZ-CABRERA, L.; WRIGHT, D.J.; BORROTO, C.G.; AYRA-PARDO, C. Strong oviposition preference for Bt over non-Bt maize in *Spodoptera frugiperda* and its implications for the evolution of resistance. **BMC Biology**, v.12, doi: 10.1186/1741-7007-12-48, 2014.

THIES, C.; HAENKE, S.; SCHERBER, C.; BENGTSSON, J.; BOMMARCO, R.; CLEMENT, L.W.; CERYNGIER, P.; DENNIS, C.; EMMERSON, M.; GAGIC, V.; HAWRO, V.; LIIRA, J.; WEISSER, W.W.; WINQVIST, C.; TSCHARNTKE, T. The relationship between agricultural intensification and biological control: experimental tests across Europe. **Ecological Applications**, v.21, p.2187-2196, 2011.

URAMOTO, K.; WALDER, J.M.M; ZUCCHI, R.A. Análise quantitativa e distribuição de populações de espécies de *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) no campus Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP. **Neotropical Entomology**, v.32, p.33-39, 2005.

ULRICHS, C.; MEWIS, I. Evaluation of the efficacy of *Trichogramma evanescens* Westwood (Hym., Trichogrammatidae) inundative releases for the control of *Maruca vitrata* F. (Lep., Pyralidae). **Journal of Applied Entomology**, v.128, p. 426-431, 2004 .

VIEIRA, J.M.; QUERINO, R.B.; CÔNSOLI, F.L.; ZUCCHI, R.A. An integrative taxonomic approach to characterize *Trichogramma marandobai* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Zootaxa**, v.4021, p.447-458, 2015.

WANG, Z-Y.; HE, K-H.; ZHANG, F.; LU, X.; BABENDREIER, D. Mass rearing and release of *Trichogramma* for biological control of insect pests of corn in China. **Biological Control**, v. 68, p.136-144, 2014.

WU, K.M.; LU, Y.H.; FENG, H.Q.; JIANG, Y.Y.; ZHAO, J.Z. Suppression of cotton bollworm in multiple crops in China in areas with Bt toxin-containing cotton. **Science**, v. 321, p.1676-1678, 2008.

ZANUNCIO, J.C.; TORRES, J.B.; SEDIYAMA, C.A.Z.; PEREIRA, F.F.; PASTORI, P.L.; WERMELINGER, E.D.; RAMALHO, F.S. Mortality of the defoliator *Euselasia eucerus* (Lepidoptera: Riodinidae) by biotic factors in an *Eucalyptus urophylla* plantation in Minas Gerais State, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.81, p.61-66, 2009.

ZHAO, J.H.; HO, P.; AZADI, H. Benefits of Bt cotton counterbalanced by secondary pests? Perceptions of ecological chance in China. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 173, p.985-99, 2011.

ZUCCHI, R.A.; QUERINO, R.B.; MONTEIRO, R.C. Diversity and hosts of *Trichogramma* in the New World, with emphasis in South America. In: CONSOLI, F.; PARRA, J.; ZUCCHI, R. Eds. **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on *Trichogramma***. Progress in biological control, Springer, Dordrecht, 2010.

YANG, Y.Z.; YU, Y.S.; REN, L.; SHAO, Y.D.; QUIAN, K.; ZALUCKI, M.P. Possible incompatibility between transgenic cottons and parasitoids. **Australian Journal of Entomology**, v.44, p.442-445, 2005.

5 CAPÍTULO III - AN INTEGRATIVE TAXONOMY OF A NEW SPECIES OF *Trichogramma* WESTWOOD (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) WITH HIGH REPRODUCTIVE CAPACITY

TA TAKAHASHI¹, G NISHIMURA¹, RB QUERINO², LA FOERSTER³

¹Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil.

²Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Secretaria de Inovação e Negócios, Brasília, Distrito Federal, Brazil.

³Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil.

Correspondence

Tamara Akemi Takahashi, Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade, Universidade Federal do Paraná, Rua dos Funcionários, 1540, Curitiba, Paraná, Brazil, tamaratakahashi@gmail.com

ABSTRACT

A new species of *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) is described: *Trichogramma foersteri* **sp. nov.** Takahashi from eggs of *Anticarsia gemmatalis* Hübner, (Lepidoptera: Erebidae) a major soybean defoliating pest. The parasitoid was collected in São José dos Pinhais, Paraná State, Brazil, and molecular and morphological characters were used to confirm the identity of the new species. Preliminary biological data are provided to demonstrate its high capacity of parasitism. The new species is a potential candidate as a biological control agent against some lepidopteran-pests.

Key words: egg parasitoid, insect host, biological control, nonreproductive effect

Running title: *Trichogramma foersteri*: a new species from Brazil

1 INTRODUCTION

Among the various groups of egg parasitoids used as biological control agents of agricultural insect pests in the world, the genus *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) is by far the most studied, and over 230 species have been described, of which 29 are recorded in Brazil (Querino & Zucchi 2019). Up to now, seven species of *Trichogramma* have been recorded parasitizing eggs of the velvetbean caterpillar *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Erebididae) in soybeans in Southern Brazil (Foerster & Avanci 1999, Cañete & Foerster 2003, Avanci *et al* 2005, Dudczak *et al* 2017), and in January 2018 an unidentified species of *Trichogramma* was collected from sentinel eggs of *A. gemmatalis* laid by moths caged on soybean plants in São José dos Pinhais, Paraná state, Brazil.

For biological control purposes, native parasitoid species are preferred over imported ones since they are better adapted to climate and host and habitat conditions (Smith 1996). Therefore, the discovery of a new native *Trichogramma* species is highly desirable in search for favorable biological attributes, namely fecundity, tolerance to a wide range of temperature and host preference. In Brazil, only *Trichogramma pretiosum* Riley and *Trichogramma galloi* Zucchi are commercially available for the control of lepidopteran pests of corn and the sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Togni *et al* 2019). Bioecological studies have been carried out to assess the potential of these and other *Trichogramma* species for inundative or conservative biological programs (Avanci *et al* 2005, Dequech *et al* 2013, Figueiredo *et al* 2015, Querino *et al* 2016, Souza *et al* 2016, Tang *et al* 2017).

Parasitism rate is the main parameter used to assess the performance of *Trichogramma* species (Tabone *et al* 2010, Tang *et al* 2017). However, these parasitoids can cause host mortality from other factors such as host feeding, and in certain circumstances the host egg is drilled though the female does not lay eggs. But, these are poorly explored or evaluated behaviors (Marchioro *et al* 2015). This information can be used to choose the most effective *Trichogramma* species to be employed in biological control. Besides that, there is a need to find new species to be used as biological control agents in Brazil, and these can be the key of success to increase and stimulate a more sustainable agriculture (Togni *et al* 2019). This paper describes a new species of *Trichogramma*, the 30th species of this genus found in Brazil with great potential to be used in large scale in the country.

2 MATERIAL AND METHODS

2.1 SPECIMEN COLLECTION

A survey was conducted on a private property to collect eggs of *A. gemmatalis* in soybean (*Glycine max* L. Merrill) in São José dos Pinhais (SJP), Paraná, Brazil (25°36'46.0"S, 49°08'21.5"W), in the crop season 2017/2018. The vegetation surrounding the area is composed by fragments of mixed ombrophilous forest. The crops sown throughout the year or close to the area, in addition to soybeans are: wheat (*Triticum aestivum* Linnaeus), corn (*Zea mays* Linnaeus), black oats (*Avena strigosa* Schreb), strawberries (*Fragaria x ananassa* Duchesne) and vegetables (mainly Brassicaceae and Asteraceae). The weather in SJP is classified as Cfb – Temperate Oceanic by Köppen climate classifications (Kottek *et al* 2006).

Eggs were obtained from four pairs of *A. gemmatalis* kept inside a nylon cage covering a soybean plant. The cages consisted of a nylon cover held in place with four iron bars staked into the ground (Avanci *et al* 2005). Five replicates were randomly distributed in the area and after seven days, the plants were removed and a new plant and moths were replaced. In the laboratory, all structures of the caged plants were thoroughly inspected and the eggs collected and individually kept in 1 x 10 cm glass tubes with a drop of honey. Eggs were kept in a climatic chamber (25 ± 2 °C, 60 ± 10 % relative humidity and 14:10 h L:D photoperiod) and daily observations were made to check for the emergence of parasitoids or eclosion of larvae.

Specimens were collected from a single parasitized egg from which one male and two females emerged and were left to mate. Part of the progeny produced was stored in 99% ethanol for posterior identification, and part was used to establish a laboratory colony.

2.2 MORPHOLOGICAL DESCRIPTION

For the measurements, all adults used were less than 24h old. Specimens were mounted in Hoyer's medium, and the terminology for morphological structures and ratios was based on Pinto (1999). The descriptions and measurements were made under an Olympus BX50 microscope. Photographs were taken in a microscope Axio Lab A1 Zeiss. Quantitative data include means (in mm) followed by the standard deviation; measures were taken from 30 males, and a further 26 specimens were used to determine the basiconic sensilla formula; this procedure was made in immersion oil using a 100x lens.

For scanning electron microscopy (SEM) examination, newly emerged specimens were killed by steam of ethyl acetate dehydrated, clarified in KOH 10% solution for partially removal of the genitalia capsule, and dehydration in ethanol series (10, 30, 40, 50, 60, 80, 95 and 100%) for 15 minutes in each solution. After this procedure, the genitalia capsule was removed and the samples were dried to the critical point. The procedures were adapted from Querino & Zucchi (2003a). SEM micrographs were obtained with a Jeol JSM 6360LV electron microscope. All images were edited with Corel Draw X6.

The type material was mounted in Canada balsam, and deposited in the entomological collections Padre Jesus Santiago Moure (DZUP) at Universidade Federal do Paraná (UFPR), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ) at Universidade de São Paulo, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) and Instituto Biológico (IB-CBE).

2.3 MOLECULAR ANALYSIS

Two males were selected from the original samples for DNA extraction and genomic DNA was extracted separately from each sample. For amplification of a region of the internal transcribed spacer 2 (ITS2) of the ribosomal DNA, gDNA obtained from one male was subjected to polymerase chain reaction (PCR), using the primer set ITS2-F:5'-TGTGAACTGGAGGACACATG-3' and ITS2-R:5'-GTCTTGCCTGCTGAG-3'. In addition to ITS2, the mitochondrial cytochrome oxidase subunit 1 (COI) from the other male was amplified using the primers LCO1490:5' GGTCACAAATCATAAAGATATTGG-3' and HCO2198:5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA-3'. All details from the procedure and conditions for ITS2 and COI analyses are given in Ciociola *et al* (2001) and Kenis *et al* (2019). Sequences obtained were deposited in the GenBank under access number MT259332 (ITS2) and MT251366 (COI).

Sequences were aligned using the multiple sequence alignment CLUSTALW in MEGAX (Kumar *et al* 2018). The sequences obtained for the new species were submitted to the search for similarity using Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) (Altschul *et al* 1990) with other *Trichogramma* species sequences on GenBank database. The sequence of the nearest species was compared with the new species, and the species morphologically close available in the GenBank database. A sequence of *Trichogrammatoidea bactrae* Nagaraja, a sister taxon of *Trichogramma* was added as a basal group for tree construction. Codon positions included were 1st + 2st+ 3rd + non-conding. The tree was constructed using the maximum likelihood method based on the Tamura-Nei model (Tamura & Nei 1993) and the branch

support was estimated with 1000 bootstrap replicates (Felsenstein 1985).

2.4 BIOLOGICAL DATA

Ten 24h old females previously mated were kept individually in 1.5 x 10 cm glass tubes with a drop of honey in a climatic chamber (25 ± 2 °C, 60 ± 10 % relative humidity and 14:10 h L:D photoperiod). Cards (n= 10) with 100 eggs of *A. gemmatalis* were offered and after 24 hours the cards were removed and a new card was offered to each female; this procedure was repeated for three days. After the third day, females were removed and the glass tubes containing the eggs were maintained in the same controlled conditions mentioned above.

Eggs were daily observed to record the number of hatched larvae and/or parasitism, indicated by the blackening of the eggs. Total mortality was calculated using Abbot's (1925) formula: $TM = [(PVE - PHL) / PVE] \times 100$, where TM is the total mortality, PVE is the percentage of viable eggs (control) and PHL is the percentage of hatched larvae in each treatment. To estimate the percentage of larval hatching, 10 cards containing 25 eggs each were individualized in glass tubes (7,5 cm x 1,0 cm) and kept without contact with the parasitoids. The non-reproductive mortality was calculated by subtracting the number of parasitized eggs from the total number of unviable eggs. Besides that, on the first day we evaluated the emergence viability (number of eggs with parasitoid exit hole/number of parasitized eggs), number of parasitoids per egg (total number of emerged parasitoids/number of parasitized eggs) and sex ratio (females/total of offspring).

3 RESULTS

3.1 TAXONOMY

Trichogramma foersteri Takahashi, **new species**

Description. Male. Based on laboratory-reared specimens maintained in the same host in which they were collected in the field. Quantitative data was taken from 30 males (HTL= 0.18 ± 0.03 mm). Color primarily dark brown.

Antenna (Fig 1a): flagellum length (0.15 ± 0.02); ratio of length to width of flagellum (4.73 ± 0.59); flagellum length to hind tibial length (0.84 ± 0.04); flagelliform setae short (0.07 ± 0.005), tapering to apex (Fig 1a); longest flagelliform setae length to greatest flagellum width (2.12 ± 0.28); basiconic sensilla subglobose (Fig 3e), with formula 1-2-1-0-1-1; three placoid sensilla, basal sensillum (0.04 ± 0.004).

Wings (Fig 1b): Forewing not infuscate behind venation; width (0.28 ± 0.03); width to length ratio (0.52 ± 0.02); fringe setae length (0.04 ± 0.005); fringe setae length to length of hind tibia (0.21 ± 0.02); fringe setae length to width of forewing (0.14 ± 0.01); 13-33 setae between 4th and 5th setal tracks. Anterior track of hind wing with 2 to 6 setae, posterior track with 6 to 11 setae, extending well beyond midpoint of middle track and reaching almost the wing apex.



Fig 1 *Trichogramma foersteri* Takahashi **sp. nov.** Male. a- Antenna; b- Forewing and hind wing.

Mesoscutum. Lengths of anterior (0.04 ± 0.004) and posterior (0.03 ± 0.004) (Fig 3a).

Scutellum. ratio of anterior to posterior pair (0.19 ± 0.04) (Fig 3a).

Male genitalia (Figs 2a-b, 3b-c): genital capsule longer (0.17 ± 0.02) than wide (0.07 ± 0.01); ratio of width to length of genital capsule (0.39 ± 0.03); apical distance to genital capsule length (0.25 ± 0.09); apical width to length of genital capsule (0.27 ± 0.03); dorsal lamina length to genital capsule length (0.39 ± 0.03); dorsal lamina length to dorsal lamina width (1.78 ± 0.20); dorsal aperture length to dorsal lamina length (1.52 ± 0.17); posterior extension of dorsal lamina long (0.05 ± 0.005) and narrow with apex not extending beyond the volsellae; dorsal lamina medium (0.07 ± 0.007), narrowing from apex to base; posterior extension of dorsal lamina length to dorsal lamina length (0.80 ± 0.08); dorsal ridge absent; ventral ridge medium (0.06 ± 0.01), reaching midpoint of genital capsule; ventral ridge length to basal distance (0.48 ± 0.17); basal distance to genital capsule length (0.75 ± 0.10); aedeagus length to length of hind tibia (1.10 ± 0.06), length of apodemes to length of aedeagus (0.50 ± 0.05); intervolsellar process long (0.02 ± 0.003), robust, slightly rounded apex (Fig 3d), not reaching apex of volsellae; ventral processes on the base of intervolsellar process (Fig 2b).



Fig 2 Male genitalia of *Trichogramma foersteri* Takahashi **sp. nov.** a- Dorsal view; b- Ventral view.

Type material. Holotype: male, BRAZIL, PARANÁ: São José dos Pinhais, 18.I.2017, ex eggs *Anticarsia gemmatalis* on *Glycine max*, T.A. Takahashi collr. (UFPR). **Paratypes:** Three males and two females mounted in Canada balsam with same data as holotype, and a glass vial with

specimens in ethanol 99% are deposited in the entomological collections of UFPR, ESALQ, UFSCar and IB-CBE.

Distribution. Known only from the type material.

Host. *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Erebidae) on *Glycine max*.

Etymology. The species epithet honors Dr. Luís Amilton Foerster for his valuable contribution to the study of *Trichogramma* species on annual field crops in Brazil.

Genbank: MT259332 (ITS2) and MT251366 (COI).

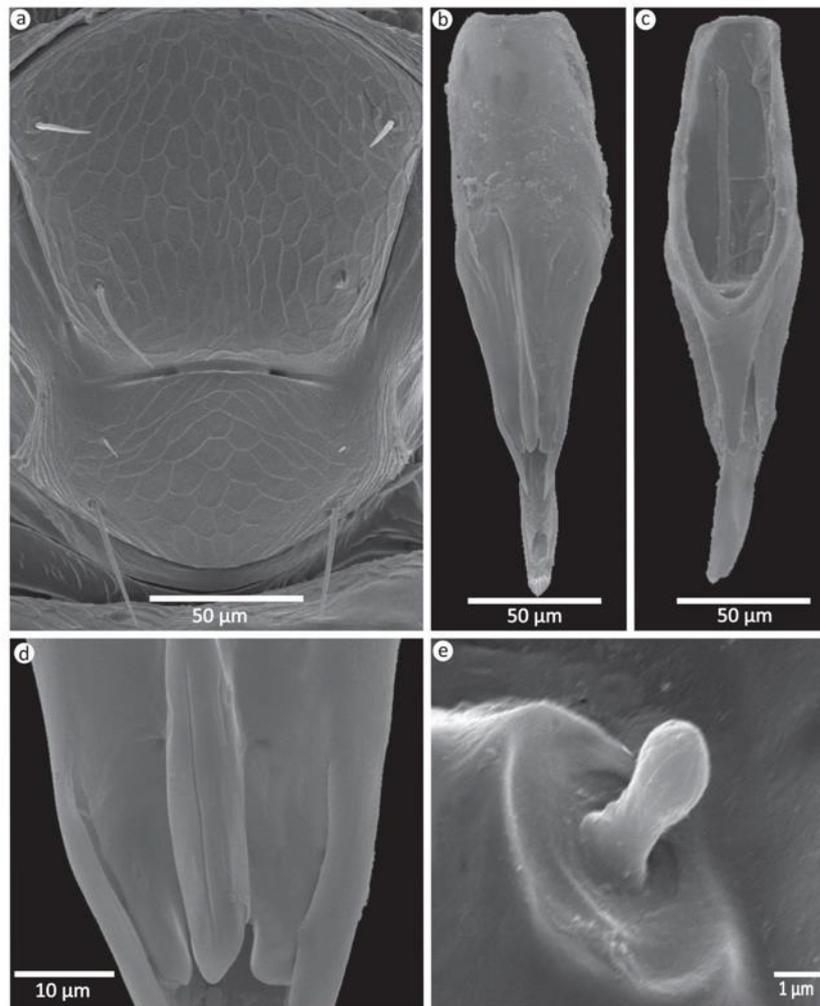


Fig 3 *Trichogramma foersteri* sp. nov. Male. a- Mesoescutum and scutellum; b-d Genitalia (b- Ventral view; c- Dorsal view; d- Detail of rounded intervosellar process (IVP), e- Basiconic sensilla position 2).

3.2 DIAGNOSIS

Among South American species, *Trichogramma foersteri* is more similar to *Trichogramma marandobai* Brun, Moraes & Soares, but morphologically it differs from *T.*

foersteri by the posterior track of the hind wing reaching midpoint of middle track and the basiconic sensilla formula with two basiconic sensilla in position three (Vieira *et al* 2015). In *T. foersteri*, posterior track of hind wing reaches almost the wing apex and has one basiconic sensilla in position three. Besides that, *T. foersteri* has longer measures like the genital capsule, ventral ridge and the proportions of dorsal opening length/dorsal lamina length and dorsal lamina length to dorsal lamina width. These two species occur on different crops and hosts, *T. marandobai* parasitizes exclusively eggs of *Erinnyis ello* Linnaeus on cassava (*Manihot esculenta* Crantz), and *T. foersteri* was found on eggs of *A. gemmatalis* in soybean. This information can be useful to help to separate these two species initially.

In the key of Querino & Zucchi (2019), *Trichogramma foersteri* sp. nov. runs to *T. marandobai* (couplet 38), from which it differs in intervolsellar process with slightly rounded apex, and it is associated with eggs of *A. gemmatalis* in soybean. For this couplet it can be differentiated by the distance of ventral processes to the base of the IVP, which are near in *T. marandobai* and in *T. foersteri* are located at the base of the IVP.

In relation to other South American species, *T. foersteri* also somewhat resembles *Trichogramma colombiense* Velásquez & Téran, *Trichogramma fuentesi* Torre and *Trichogramma parrai* Querino & Zucchi. As cited by those authors, *T. colombiense* is very similar to *T. marandobai* being very difficult to separate them morphologically. However, *T. colombiense* is the only species associated with *E. ello* on cassava not recorded in Brazil. They can probably be considered synonymous in the future (RBQ pers. info.). *Trichogramma fuentesi* was characterized by Querino & Zucchi (2003a), and the most relevant characters to separate it from *T. foersteri* are anterior row of setae on hind wing with 0 to 3 setae, globular basiconic sensilla, intervolsellar process (IVP) with pointed apex, sometimes bifid, and shorter ventral ridge. *Trichogramma foersteri* has 2 to 6 setae on hind wing, subglobose basiconic sensilla and IVP with rounded apex, furthermore, the genital capsule is longer than in *T. fuentesi*. This species is distributed in several South American countries (Noyes, 2019), but not in Brazil (Querino & Zucchi 2019). About *T. parrai*, this species is easily separated from *T. foersteri* by the distance of the ventral process to the base of the IVP, close in *T. parrai* and ventral ridge with indistinct anterior limit, while in *T. foersteri* the ventral process is located at the base of IVP and ventral ridge is long, easily observed with the optical microscope. Moreover, *T. parrai* has a long flagellum and has a characteristic posterior extension of the dorsal lamina with linguiform aspect and extending behind the volsellae, and differs from *T. foersteri* on hind wings, which have fewer setae, anterior track is absent and posterior track not reaching the midpoint of the middle track, while in *T. foersteri* flagellum is short, anterior and

posterior track have many setae, and the posterior track almost reaching the wing apex (see more of *T. parrai* in Querino & Zucchi, 2003b).

3.3 MOLECULAR IDENTIFICATION

The sequence of ITS2 from *T. foersteri* was submitted to a search for similarity in Genbank using BLAST and showed that *T. foersteri* has a low percent identity (87,80%) with *Trichogramma dendrolimi* Matsura (MN460658); moreover, *T. dendrolimi* does not occur in South America, and morphologically *T. foersteri* is not close to *T. dendrolimi*.

There are more than 60 sequences of ITS2 of *Trichogramma* species on Genbank data base. To construct the first phylogenetic tree, we selected only species that occur in South America to compare with *T. foersteri* and added a sequence of *T. dendrolimi* to confirm the analysis (Fig 4).

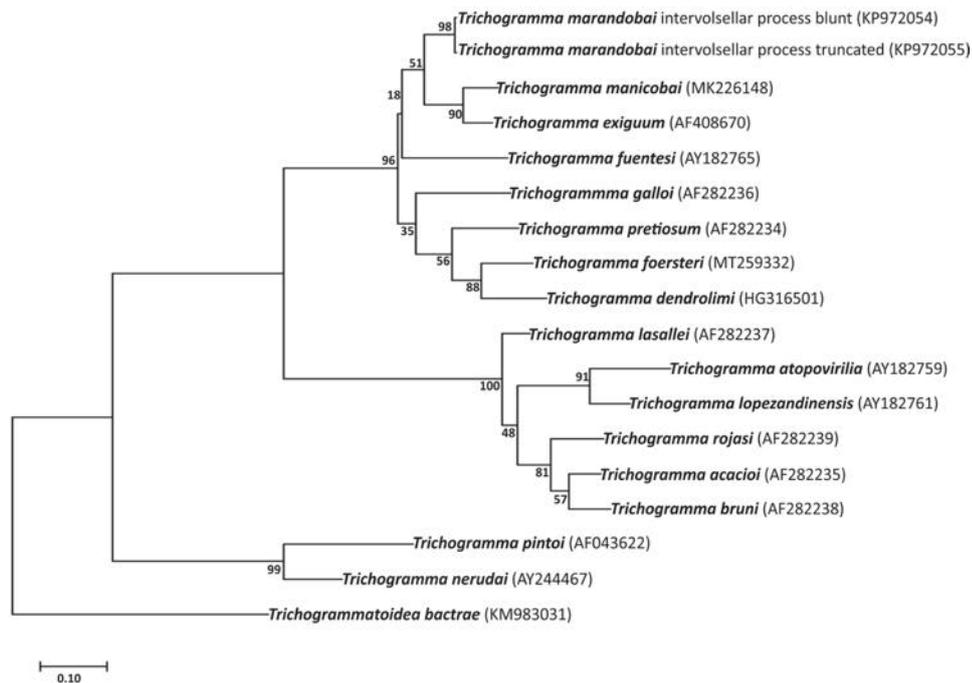


Fig 4 Molecular phylogenetic analysis with ITS2 of *Trichogramma foersteri* Takahashi **sp. nov.** and South American species by the maximum likelihood method. The tree with the highest log likelihood (-6124.11) is shown. The percentage of trees in which the associated taxa clustered together is shown next to the branches. The analysis involved 18 nucleotide sequences. There was a total of 851 positions in the final dataset.

On the second tree, only South American species with elongated intervolsellar process were selected to determine the correct phylogenetic position of *T. foersteri* (Fig 5). *Trichogramma foersteri* has 83.78% percent identity with *T. fuentesi* (AY182765), 83.96 - 83.69% to *T. marandobai* (KP972054 - KP972055), and 85,41% with *T. pretiosum*

(AF282234). These results prove that the ITS2 method is still effective to separate species morphologically close, and although *T. foersteri* can be similar to *T. fuentesi* and *T. marandobai*, the low percentage of identity and the position on the tree shows that *T. foersteri* is a valid species.

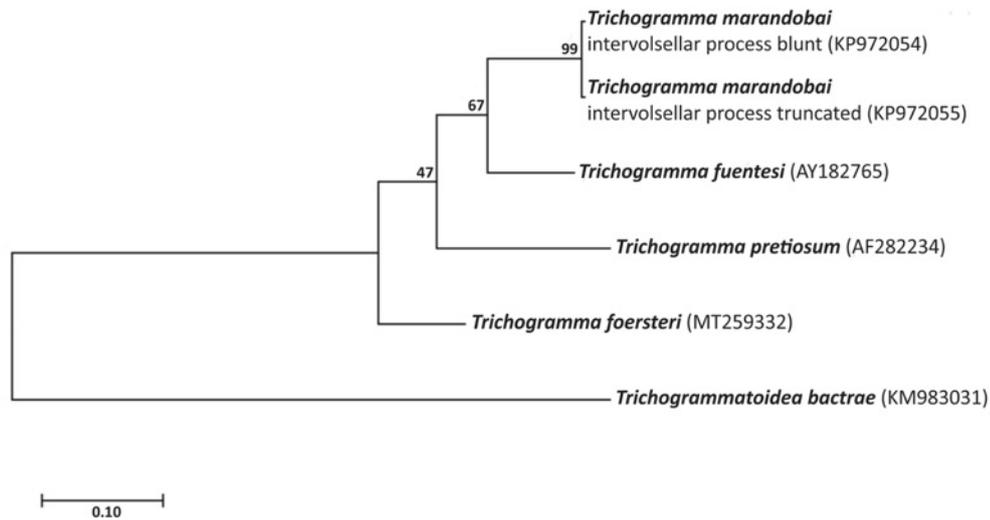


Fig 5 Molecular phylogenetic analysis with ITS2 of *Trichogramma foersteri* Takahashi **sp. nov.** and related South American species with elongated intervolsellar process by the maximum likelihood method. The tree with the highest log likelihood (-1994.40) is shown. The percentage of trees in which the associated taxa clustered together is shown next to the branches. The analysis involved 6 nucleotide sequences. There was a total of 574 positions in the final dataset.

In search for a better result, all species of *Trichogramma* with sequences of ITS2 and COI available on the database were joined and a new phylogenetic tree was created (Fig 6). There are only two species with both sequences available that occurs in South America: *T. pretiosum* and *Trichogramma exiguum* Pinto & Platner. But it is possible to state that *T. foersteri* is clearly separated from the South American species and from the others worldwide.

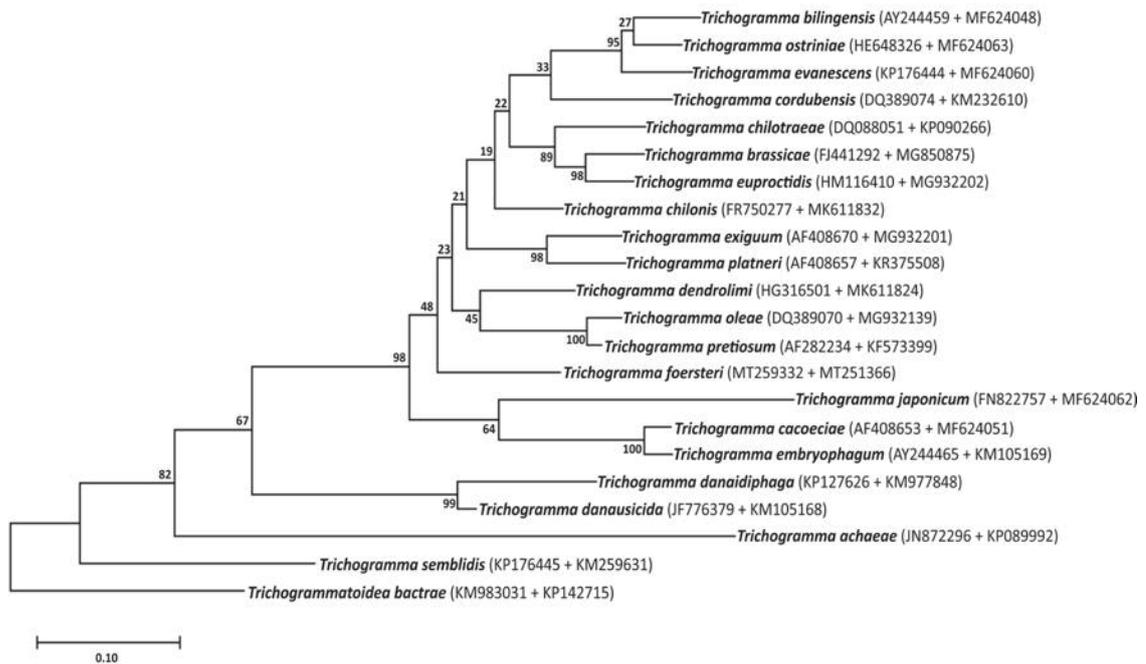


Fig 6 Molecular phylogenetic analysis with the union of ITS2 and COI of *Trichogramma foersteri* Takahashi **sp. nov.** and all *Trichogramma* species available in the data by maximum likelihood method. The tree with the highest log likelihood (-12331.75) is shown. The percentage of trees in which the associated taxa clustered together is shown next to the branches. The analysis involved 22 nucleotide sequences. There was a total of 1350 positions in the final dataset.

3.4 BIOLOGICAL DATA

A colony of *T. foersteri* has been kept in laboratory since February 2018, for over 80 generations without losing its biological traits of development, fecundity and longevity. In laboratory, we recorded an average of 98.4 *A. gemmatilis* eggs parasitized by *T. foersteri* at 25°C in the first 24 hours after female emergence (Table 1). Furthermore, the parasitoid causes egg mortality by a process of unviability (nonreproductive effect) (Abram *et al* 2019), providing host control of more than 165 eggs in three days (Table 1). In this species nonreproductive mortality apparently is not linked to female feeding, due to the large number of eggs rendered unviable. Only recently, attention has been drawn to the impact of the nonreproductive killing of parasitoids on host-pest populations (Marchioro *et al* 2015, Abram *et al* 2016, Abram *et al* 2019). Total mortality (Table 1) indicates that *T. foersteri* has a much higher parasitism capacity than other known *Trichogramma* species found in Brazil (Consôli & Parra 1995, Bueno *et al* 2012, Foerster *et al* 2014, Laurentis *et al* 2019).

Table 1 Number (\pm SE) of eggs parasitized, unviable eggs by nonreproductive mortality and total mortality caused by females of *Trichogramma foersteri* during three days of observation at 25 ± 2 °C, 60 ± 10 % relative humidity and 14:10 h L:D photoperiod.

Day	Parasitism	Nonreproductive mortality	Total mortality
1	98.4 \pm 0.51	1.60 \pm 0.51	100.00 \pm 0.00
2	15.3 \pm 5.92	84.07 \pm 1.57	99.37 \pm 0.50
3	0.00 \pm 0.00	82.29 \pm 10.80	82.29 \pm 10.80
Total	113.70	167.96	281.66

The percentage of emergence was 99%, and the sex ratio observed was 0.91 ± 0.01 (SD), which indicated that *A. gemmatalis* is an adequate host for the development of *T. foersteri*. The mean number of parasitoids emerging per egg was 1.81 ± 0.03 and this value is related to host egg density (Harba & Idris 2018, Pereira *et al* 2004) and egg size (Roriz *et al* 2006, Shoeb & El-Heneidy 2010). This result is similar to the ones reported for species like *T. atopovirilia* Oatman & Platner, *T. pretiosum* and *Trichogramma rojasi* Nagaraja & Nagarkatti reared in this same host (Foerster *et al* 2014).

In addition to controlling *A. gemmatalis* eggs in laboratory, successfully parasitism was recorded on eggs of more than ten lepidopteran species belonging to four families (Fig 7), including *Anagasta kuehniella* (Zeller), an alternative host widely used in mass-production of *Trichogramma* species worldwide (Hassan 1993, Smith 1996)

Family	Host species
Crambidae	<i>Diatraea saccharalis</i> (Fabricius) * <i>Duponchelia fovealis</i> Zeller
Erebidae	<i>Anticarsia gemmatalis</i> Hübner
Noctuidae	<i>Agrotis ipsilon</i> (Hufnagel) <i>Chrysodeixis includens</i> (Walker) <i>Helicoverpa armigera</i> (Hübner) <i>Helicoverpa zea</i> (Boddie) <i>Mythimna sequax</i> (Franclemont) <i>Peridroma saucia</i> (Hübner) <i>Spodoptera cosmioides</i> (Walker) <i>Spodoptera eridania</i> (Stoll) <i>Spodoptera frugiperda</i> (Smith)
Pyralidae	<i>Anagasta kuehniella</i> (Zeller)

Fig 7 Lepidopteran host species screened in laboratory for parasitism by *Trichogramma foersteri* Takahashi **sp. nov.** ($25^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$, RH $70 \pm 10\%$ and photophase 14:10 h L:D) (*no emergence).

Considering that on the first day nearly all eggs were parasitized, it is conceivable that if more eggs were offered, parasitism rate would be even higher. These preliminary data suggest that *T. foersteri* shows a high potential to control host species that lay aggregated egg masses like species of *Spodoptera* Guenée, *Peridroma saucia* (Hübner) and *Mythimna sequax* (Franclemont), and can be mass-reared on *A. kuehniella* (fictitious hosts) feeding on flour diet.

Acknowledgments

We are grateful to Norma G. Ganho and Paulo E. F. e Alvarenga from Coleção Entomológica Padre Jesus Santiago Moure of the Universidade Federal do Paraná (UFPR) for technical imaging support. We are grateful to Centro de Tecnologias Avançadas em Fluorescência (CTAF-UFPR) and Centro de Microscopia Eletrônica (CEM-UFPR) for the use and assistance with SEM images. To the team of Laboratório de Controle Integrado de Insetos for their help in field work. To Dr. Renato José Pires Machado from UFPR for all discussions of phylogenetic analysis and the farmers André Valenga and Edson Kachinski for the assignment of the experimental area to carry out the work. To Adelia Bischoff and Koppert Biological Systems for providing eggs of *D. fovealis*, *D. saccharalis* and *A. ipsilon*. This study was partially financed by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001.

Nomenclature Zoobank registration can be found at:
<http://www.zoobank.org/urn:lsid:zoobank.org:pub:3B8944E1-BAB2-4BE3-93FB-43A8AFAA2E25>

Author Contribution Statement

All authors contributed to the study. Material preparation and description was performed by TAT. Field collections and biological data were provided by GN and TAT. The description study was supervised by RBQ which also reviewed and edited the manuscript. First draft of the manuscript was written by TAT and LAF, who supervised the fieldwork. All authors read and approved the final manuscript.

REFERENCES

- Abbot, WS (1925) A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J Econ Entomol*, 18:265–267.
- Abram PK, Brodeur J, Burte V, Boivin G (2016) Parasitoid-induced host egg abortion: an underappreciated component of biological control services provided by egg parasitoids. *Biol Control*, 98:52–60.
- Abram PK, Brodeur J, Urbaneja A, Tena A (2019) Nonreproductive effects of insect parasitoids on their hosts. *Annu Rev Entomol*, 64:259–276.
- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ (1990) Basic local alignment search tool. *J Mol Biol*, 215:403-410.
- Avanci MRF, Foerster LA, Cañete CL (2005) Natural parasitism in eggs of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera, Noctuidae) by *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in Brazil. *Rev Bras Entomol*, 49:148-151.
- Bueno RCOF, Parra JRP, Bueno AF (2012) *Trichogramma pretiosum* parasitism of *Pseudoplusia includens* and *Anticarsia gemmatalis* eggs at different temperatures. *Biol Control* 60:154-162.
- Cañete CL, Foerster LA (2003) Incidência natural e biologia de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera, Noctuidae). *Rev Bras Entomol*, 47:201-204.
- Ciociola-Júnior AI, Querino RB, Zucchi RA, Stouthamer R (2001) Molecular tool for identification of closely related species of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae): *T. rojasi* Nagaraja & Nagarkatti and *T. lasallei* Pinto. *Neotrop Entomol*, 30:575–578.
- Cônsoli FL, Parra JRP (1995) Effects of constant and alternating temperatures on *Trichogramma galloi* Zucchi (Hym., Trichogrammatidae) biology II.- parasitism capacity and longevity. *J Appl Entomol*, 9:667–670
- Dequech STB., Camera C, Sturza VS, Ribeiro LP, Querino RB, Poncio S (2013) Population fluctuation of *Spodoptera frugiperda* eggs and natural parasitism by *Trichogramma* in maize. *Acta Sci Agron*, 35: 295-300.
- Dudczak AC, Querino RB, Foerster MR, Foerster LA (2017) First occurrence of *Trichogramma bruni* Nagaraja (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitizing eggs of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Erebidae) in Brazil. *Neotrop Entomol*, 46:471-472.
- Felsenstein J (1985) Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*, 39:783-791.
- Figueiredo MLC, Cruz I, Silva RB, Foster JE (2015) Biological control with *Trichogramma pretiosum* increases organic maize productivity by 19.4%. *Agron Sustain Dev*, 35:1175-1183.
- Foerster LA, Avanci MRF (1999) Egg parasitoids of *Anticarsia gemmatalis* Hübner

(Lepidoptera: Noctuidae) in soybeans. *An Soc Entomol Bras*, 28:545-548.

Foerster MR, Marchioro CA, Foerster LA (2014) Temperature-dependent parasitism, survival, and longevity of five species of *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) associated with *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). *Neotrop Entomol*, 43:176-182.

Harba M, Idris I (2018) The effect of host density and viability on superparasitism behavior of *Trichogramma cacoeciae* and *T. principium* females. *Agric For Fish*, 7:11-18.

Hassan SA, (1993) The mass rearing and utilization of *Trichogramma* to control lepidopterous pests: Achievements and outlook. *Pestic Sci*, 37:387–391.

Kenis M, du Plessis H, Van den Berg J, Ba MN, Goergen G, Kwadjo KE, Baoua I, Tefera T, Buddie A, Cafà G, Offord L, Rwomushana I, Polaszek A (2019) *Telenomus remus*, a candidate parasitoid for the biological control of *Spodoptera frugiperda* in Africa, is already present on the continent. *Insects*, 10:92.

Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K (2018) Mega X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol*, 35:1547-1549.

Kottek M, Grieser J, Beck C, Rudolf B, Rubel F (2006) World Map of the Köppen-Geiger climate classification updated. *MeteorolZ*, 15:259-263.

Laurentis VL, Ramalho DG, Santos NA, Carvalho VFP, Vacari AM, De Bortoli SA, Veneziani RCS, Inácio GC, Dami BG (2019) Performance of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on eggs of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Sci Rep*, 9:1156.

Marchioro CA, Krechemer FS, Foerster LA (2015) Assessing the total mortality caused by two species of *Trichogramma* on its natural host *Plutella xylostella* (L.) at different temperatures. *Neotrop Entomol*, 44:270-277.

Noyes, JS (2019) Universal Chalcidoidea Database. World Wide Web electronic publication. <http://www.nhm.ac.uk/chalcidoids> Accessed 14 Nov 2020

Pereira FF, Barros R; Pratisoli D, (2004) Desempenho de *Trichogramma pretiosum* Riley e *T. exiguum* Pinto & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) submetidos a diferentes densidades de ovos de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Cienc Rural*, 3:1669–1674.

Pinto JD (1999) Systematics of the North American species of *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Memoirs of the Entomological Society of Washington*, 22, 1–287.

Querino RB, Zucchi RA (2003) Caracterização morfológica de dez espécies de *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) registradas na América do Sul. *Neotrop Entomol*, 32:597-613.

Querino RB, Zucchi RA (2003) Six new species of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) from a Brazilian forest reserve. *Zootaxa*, 134:1-11.

- Querino RB, Silva NNP, Zucchi RA (2016) Natural parasitism by *Trichogramma* spp. in agroecosystems of the Mid-North, Brazil. *Cienc Rural*, 46:1521-1523.
- Querino RB, Zucchi RA (2019) Annotated checklist and illustrated key to the species of *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) from South America. *Zootaxa*, 4656:201-231.
- Roriz V, Oliveira L, Garcia P (2006) Host suitability and preference studies of *Trichogramma cordubensis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Biol Control*, 36:331–336.
- Shoeb MA, El-Heneidy AH (2010) Incidence of superparasitism in relation to some biological aspects of the egg parasitoid, *Trichogramma evanescens* west. (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Egypt J Biol Pest Co*, 20:61–66.
- Smith SM (1996) Biological control with *Trichogramma*: Advances, successes, and potential of their use. *Ann Rev Entomol*, 41:375-406.
- Souza AR, Giustolin TA, Querino RB, Alvarenga CD (2016) Natural parasitism of lepidopteran eggs by *Trichogramma* species (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in agricultural crops in Minas Gerais, Brazil. *Fla Entomol*, 99:221-225.
- Tabone E, Bardon C, Desneux N, Wajnberg E (2010) Parasitism of different *Trichogramma* species and strains on *Plutella xylostella* L. on greenhouse cauliflower. *J Pest Sci*, 83:251-256.
- Tamura K, Nei M (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol Biol Evol*, 10:512-526.
- Tang R, Babendreier D, Zhang F, Kang M, Song K, Hou M-L (2017) Assessment of *Trichogramma japonicum* and *T. chilonis* as potential biological control agents of yellow stem borer in rice. *Insects*, 8:19.
- Togni PHB, Venzon M, Lagôa ACG, Sujii ER (2019) Brazilian legislation leaning towards fast registration of biological control agents to benefit organic agriculture. *Neotrop Entomol*, 48:175-185.
- Van Lenteren JC; Bigler F (2010) Quality control of mass reared egg parasitoids. In: F.L. Consoli et al. (eds) *Egg Parasitoids in Agroecosystems with Emphasis on Trichogramma*, Springer, Amsterdam, The Netherlands, pp 315–340.
- Vieira JM, Querino RB, Cónsoli FL, Zucchi RA (2015) An integrative taxonomic approach to characterize *Trichogramma marandobai* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Zootaxa*, 4021:447-458.

6 CAPÍTULO IV – POTENCIAL DE *Aleiodes* sp. nov. (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) NO CONTROLE DE *Spodoptera eridania* (STOLL) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) E IMPACTO DA PROTEÍNA CRY1AC NO TERCEIRO NÍVEL TRÓFICO.

RESUMO

Parasitoides desempenham uma importante função na regulação de insetos em programas de controle biológico e no manejo integrado de pragas, especialmente de lagartas resistentes a plantas transgênicas, que expressam proteínas tóxicas de *Bacillus thuringiensis* Berliner. A ocorrência de espécies de lepidópteros naturalmente tolerantes a estas proteínas tóxicas diminui a eficiência dessa tecnologia e traz como consequência a necessidade do emprego de inseticidas químicos para o controle dessas espécies. *Aleiodes* sp. nov. é um endoparasitoide larval solitário coletado em lagartas de *Spodoptera eridania* (Stoll) no município de São José dos Pinhais, Paraná em cultura de soja transgênica (*Glycine max* L.) que expressa a proteína tóxica Cry1Ac. Avaliou-se em laboratório, o potencial desta nova espécie de *Aleiodes* no controle de lagartas de *S. eridania* tolerantes às proteínas Cry na cultura da soja. Comparou-se a capacidade diária de parasitismo durante três dias consecutivos e por duas gerações, em larvas de segundo instar de *S. eridania* alimentadas com a cultivar de soja convencional BRS511 e a introdução transgênica BRS 1003IPRO contendo a proteína inseticida Cry1Ac. O tempo de desenvolvimento e a longevidade dos adultos não diferiram estatisticamente quando o parasitoide se desenvolveu em lagartas alimentadas com soja convencional ou transgênica. Mais de 20 lagartas foram parasitadas por fêmea de *Aleiodes* durante os três dias de fornecimento do hospedeiro e o tempo entre a oviposição e a formação da pupa foi completado em menos de 10 dias nas duas gerações avaliadas. O curto tempo de desenvolvimento indica que a praga é rapidamente morta pelo parasitoide e poucos danos são causados, pelo fato das lagartas serem parasitadas no início da fase larval. O peso das pupas de *Aleiodes* sp. nov. foi estatisticamente semelhante entre as duas cultivares de soja e a razão sexual, embora com menor proporção de fêmeas entre os parasitoides emergidos de lagartas alimentadas com plantas Bt, não diferiu estatisticamente do tratamento com soja convencional. Não foi detectada a proteína Cry1Ac pelo teste de ELISA em adultos do parasitoide que se desenvolveram na fase larval em lagartas alimentadas com folhas de soja Bt. Lagartas de *S. eridania* são naturalmente tolerantes a plantas de soja que expressam a proteína tóxica Cry1Ac de *B. thuringiensis* e o parasitoide mostrou, sob condições de laboratório, um elevado potencial de controle de *S. eridania*. No campo, esta nova espécie de *Aleiodes* pode ser integrada ao manejo da soja em cultivares transgênicos e contribuir para a redução no uso de inseticidas químicos.

Palavras-chave: tritrófico, ELISA, controle biológico, avaliação de risco

ABSTRACT

Parasitoids play an important role in the regulation of insect populations in biological control and pest management programs, especially of lepidopteran larvae resistant to transgenic plants (GM plants) expressing toxins from *Bacillus thuringiensis* Berliner. The natural tolerance of larvae to these toxic proteins decreases the efficiency of this technology and as a consequence the use of chemical insecticides increases. *Aleiodes* sp. nov. is a solitary larval endoparasitoid collected on larvae of *Spodoptera eridania* (Stoll) in the municipality of São José dos Pinhais, Paraná, Brazil in a GM soybean (*Glycine max* L.) crop expressing the toxic protein Cry1Ac. Its potential as a biological control agent of lepidopteran-resistant species on soybean Bt crops was evaluated in laboratory. The daily parasitism capacity of *Aleiodes* sp. nov. during a three-day period was compared during two consecutive generations on second instar larvae of *S. eridania* fed on the conventional soybean cultivar BRS511 and the introduction transgenic BRS 1003IPRO containing the insecticidal protein Cry1Ac. The development time and adult longevity did not differ statistically when the parasitoid developed on larvae fed on conventional or transgenic soybeans. More than 20 larvae were parasitized by each *Aleiodes* female during three days of host supply and the time between oviposition and pupation was completed in less than 10 days in both generations evaluated. The short development period indicates that the pest is rapidly killed by the parasitoid and little damage is caused because the caterpillars are parasitized in their early instars. The pupal weight of *Aleiodes* sp. nov. was statistically similar between the two soybean cultivars consumed by the larvae, and the sex ratio, although producing a lower proportion of females from parasitoids emerging from larvae fed on Bt plants, did not differ statistically from the treatment with conventional soybean. Cry1Ac protein was not detected by Elisa test in adults of the parasitoid developing in the larval phase in caterpillars fed with Bt soybean leaves. Larvae of *S. eridania* are naturally tolerant to soybean plants expressing Cry1Ac, and the parasitoid showed a high potential for the control of this pest under laboratory conditions. In the field, this species of *Aleiodes* may be integrated with GM soybean cultivars for the efficient management of *S. eridania* and contribute to reduce the use of chemical insecticides.

Key-words: tritrophic, ELISA, biological control, risk assessment

1 INTRODUÇÃO

Cultivares transgênicas que expressam proteínas inseticidas derivadas da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) se tornaram a principal tática de controle de insetos-praga nas culturas de milho, soja e algodão no mundo (ROMEIS et al., 2019). O cultivo de plantas Bt tem demonstrado benefícios ecológicos, como a diminuição na utilização de inseticidas, principalmente os de amplo espectro (SHELTON et al., 2002; BLANCO et al., 2016; BUENO et al., 2021). Esta redução além de gerar um impacto positivo ao ambiente, também se reflete na economia, pois reduz o custo de produção (KLÜMPER; QAIM, 2014; BROOKES, 2018), e favorece o controle biológico (ROMEIS et al., 2019). Apesar das vantagens geradas pelas cultivares transgênicas Bt, ainda há dúvidas sobre o risco que essa tecnologia pode ocasionar em organismos não-alvo (ROMEIS et al., 2008). Nesse contexto, destacam-se os estudos envolvendo o efeito tritrófico sobre parasitoides e predadores (RAMIREZ-ROMERO et al., 2007; TIAN et al., 2013; PAULA; ANDOW, 2016; CHANG et al., 2017; TIAN et al., 2018).

Os parasitoides larvais de forma geral, podem ser mais suscetíveis aos impactos de toxinas Bt, pois dependem de um único hospedeiro para se desenvolver e completar seu desenvolvimento, enquanto os predadores geralmente consomem presas de diferentes espécies ao longo da vida (TIAN et al., 2013). A maior parte dos estudos que avaliaram o efeito de proteínas Cry em parasitoides foram realizados com hospedeiros suscetíveis às toxinas; assim, quando o hospedeiro morre, o parasitoide que está se desenvolvendo também morre, e este então é considerado um efeito indireto do Bt, tal como sucede quando um hospedeiro é morto por inseticidas neurotóxicos (SHELTON et al. 2009; WANG et al. 2016).

A tecnologia Bt tem se mostrado eficaz no controle dos insetos-alvo (BERNARDI et al., 2012), no entanto, surtos de pragas secundárias ocasionados por espécies não-alvo, insetos naturalmente tolerantes e/ou resistentes são uma preocupação constante em lavouras Bt (OMOTO et al., 2016; HORIKOSHI et al., 2016; MACHADO et al., 2020). Este é o caso do complexo de lagartas do gênero *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae), especialmente *Spodoptera cosmioides* (Walker) e *Spodoptera eridania* (Stoll), as quais apresentam tolerância natural a proteínas Bt (LUTTRELL; WAN; KNIGHTEN, 1999; BERNARDI et al., 2014), enquanto *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) adquiriu resistência devido ao consumo contínuo de proteínas tóxicas de *B. thuringiensis* (FARIAS et al., 2014; BERNARDI et al., 2015; HORIKOSHI et al., 2016; OMOTO et al., 2016). O manejo desses insetos deve ser realizado preferencialmente através do controle biológico, uma vez que a tecnologia Bt não deve ser considerada como a única solução no controle de insetos-pragas. Um método isolado raramente

é suficiente e, ademais, diminui o tempo de vida útil das introduções transgênicas (KOS et al., 2009). O uso de inimigos naturais pode retardar a evolução da resistência de insetos às toxinas Bt e impactar positivamente no manejo integrado de pragas em culturas Bt (LIU et al., 2014; ROMEIS et al., 2019).

O parasitoide larval *Aleiodes* sp. nov. (Hymenoptera: Braconidae) é um promissor agente de controle biológico do complexo *Spodoptera* que foi coletado em números expressivos em soja Bt durante as safras de 2017/2018 e 2018/2019. As espécies de *Aleiodes* são endoparasitoides cenobiontes (GARRO et al., 2017), e são caracterizados por apresentarem um hábito peculiar e distinto que ocorre no processo de pupação dentro corpo da lagarta hospedeira, que encolhe e endurece tornando-se uma ‘múmia’, sendo assim conhecidas como ‘vespas múmias’ (SHAW; SHIMBORI; PENTEADO-DIAS, 2020). Na região neotropical são descritas 108 espécies de *Aleiodes* (SHAW; SHIMBORI; PENTEADO-DIAS, 2020), no entanto, com exceção dos trabalhos taxonômicos (SHAW; MARSH, MIRANDA, 2013; ABREU et al., 2014; SHIMBORI; SHAW, 2014) e, exceto pelo trabalho de Medina & Barbosa (2008), estudos envolvendo os parâmetros biológicos das espécies desse gênero são inexistentes. Nesse contexto, o objetivo desse estudo foi avaliar o potencial de *Aleiodes* sp. nov. no controle de lagartas de *S. eridania* alimentadas com folhas de soja convencional e soja Bt, e verificar uma possível transferência da proteína Cry1Ac ao terceiro nível trófico.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em sala climatizada a 25 ± 2 °C, $60\% \pm 10$ UR e fotoperíodo de 14:10 no Laboratório de Controle Integrado de Insetos da Universidade Federal do Paraná. As criações de *Aleiodes* sp. nov. e *S. eridania* foram iniciadas a partir de coletas de campo realizados na cultura da soja nas safras de 2017/2018 e 2018/2019.

2.1 CRIAÇÃO DO HOSPEDEIRO

Após a eclosão, as lagartas de *S. eridania* foram criadas conjuntamente entre 100 e 150 exemplares em frascos plásticos de 500 mL e alimentadas com dieta artificial (MARCHIORO; FOERSTER, 2012). A partir do terceiro instar, as lagartas foram individualizadas em potes plásticos transparentes (50 mL) até empuparem. As pupas foram acondicionadas em potes plásticos de 500 mL (11 Ø x 8 cm) com o fundo forrado com papel toalha umedecido, onde permaneciam até a emergência dos adultos os quais foram mantidos em gaiolas de tubo PVC (15 Ø x 30 cm), com a parede interna revestida com papel sulfite branco para a oviposição. A abertura superior da gaiola era fechada com um voal e na base com uma placa de petri forrada com papel filtro umedecido. Os adultos foram alimentados com solução de mel 10% diluído em água fornecido em um chumaço de algodão numa placa de petri (6 Ø x 1 cm) e em outra placa um chumaço de algodão com água. Diariamente as gaiolas eram monitoradas, o alimento renovado e as posturas retiradas. Parte dos ovos era destinada para a manutenção da criação e a outra para a criação dos parasitoides

2.2 CRIAÇÃO DOS PARASITOIDES

Os adultos de *Aleiodes* sp. nov. foram mantidos em gaiola com armação de madeira (35 x 23 x 28 cm), com as paredes laterais e a parte superior de vidro e em uma das extremidades com uma abertura de voil, que permitia acesso ao interior da gaiola. Os adultos foram alimentados com um filete de mel puro colocado em uma placa de petri e em outra placa forrada com algodão era fornecida água *ad libitum*. Para a multiplicação do parasitoide, posturas de *S. eridania* próximas à eclosão eram colocadas em potes de polietileno de 5L (33 x 22 x 10 cm), e as lagartas alimentadas com folhas de língua-de-vaca (*Rumex obtusifolius*) até o segundo instar, quando eram oferecidas às fêmeas do parasitoide.

A multiplicação de *Aleiodes* sp. nov. foi conduzida em gaiolas confeccionadas com garrafas pet de 2 L cujo fundo era retirado e fechado com voal. As garrafas eram dispostas horizontalmente e uma tela com malha de 1,25 cm de arame galvanizado de 15 cm de comprimento por 10 cm de largura era introduzida na gaiola, sobre a qual era colocada uma folha de *R. obtusifolius* com 15 lagartas de *S. eridania* de segundo instar, de forma que as fêmeas de *Aleiodes* podiam circular tanto sobre as folhas, quanto pela sua face inferior através das malhas da tela. O parasitismo foi permitido por 24 horas, e após esse período a folha e as lagartas eram retiradas e alocadas em potes de plástico de 500 mL (Ø 11 x 8 cm), contendo folhas frescas. Diariamente as folhas eram trocadas e as lagartas não parasitadas eram retiradas e eliminadas.

As pupas do parasitoide eram colocadas em um recipiente plástico (11 Ø x 8 cm) contendo papel filtro no fundo, e água era borrifada para manter a umidade. Após a emergência, os adultos eram liberados na gaiola de criação.

2.3 CULTIVO DE SOJA EM CASA DE VEGETAÇÃO

Foram utilizadas duas cultivares de soja recomendadas para a região centro-sul do estado do Paraná. As sementes utilizadas foram a BRS 511, cultivar de soja convencional, e BRS 1003IPRO soja transgênica que contém o gene cp4-epsps que confere tolerância ao herbicida glifosato e o gene Cry1Ac proveniente da bactéria *B. thuringiensis* que confere resistência ao ataque de lagartas (soja Bt). As duas cultivares possuem uma alta proximidade genética pois derivam de um parental não-transgênico comum. As sementes foram cultivadas em casa de vegetação em vasos plásticos de 5L, utilizando substrato comercial já preparado para o plantio. Quando as plantas atingiam o estágio vegetativo entre V6 e V8, as folhas eram removidas e levadas ao laboratório, imersas em uma solução de água contendo 1% de hipoclorito de sódio por 20 minutos para a remoção de patógenos, e em seguida lavadas em água corrente.

2.4 IMPACTO DE SOJA TRANSGÊNICA EM *Aleiodes* sp. nov.

A geração parental (F₀) de *Aleiodes* sp. nov. emergiu de lagartas alimentadas com folhas de língua-de-vaca (*R. obtusifolius*), um alimento neutro em relação às duas cultivares de soja a serem utilizadas como alimento dos hospedeiros a serem testados. Um tratamento consistiu de lagartas alimentadas até o segundo instar com soja transgênica Bt BRS 1003IPRO e o outro

com lagartas alimentadas com soja convencional da cultivar BRS 511. Quinze casais com adultos de *Aleiodes* sp. nov. recém emergidos (24h) foram formados para cada tratamento e colocados em gaiolas confeccionadas com garrafas pet transparentes de 2L; a cópula foi permitida por 24h e em seguida o macho foi removido da gaiola. Quinze lagartas de *S. eridania* de segundo instar alimentadas com soja Bt e soja convencional foram ofertadas ao parasitismo por uma fêmea do parasitoide. Após 24 horas, as lagartas foram retiradas e outras 15 lagartas foram ofertadas; o mesmo procedimento foi repetido no terceiro dia para avaliar o potencial reprodutivo da geração F₁ de *Aleiodes* sp. nov. durante três dias.

As lagartas expostas ao parasitismo foram transferidas para recipientes plásticos contendo folhas de soja de seus respectivos tratamentos. Diariamente as folhas eram trocadas, as fezes e as lagartas não parasitadas eram retiradas. Estas diferiam das lagartas parasitadas por apresentarem crescimento mais rápido do que as lagartas parasitadas, enquanto os exemplares parasitados cessavam a alimentação dois ou três dias após o parasitismo.

Após 48h da formação das múmias, os parasitoides foram pesados em balança analítica eletrônica (Bioprecisa modelo FA2104N), e individualizados em tubos de vidro (Ø 1 cm x 7,5 cm) e mantidos em sala climatizada a 25 ± 2 °C, $60\% \pm 10$ UR e fotoperíodo de 14:10h. Comparou-se o número de lagartas parasitadas, de parasitoides emergidos, o tempo de desenvolvimento entre a oviposição e a formação da pupa e desta até a emergência dos adultos, o peso das pupas e a longevidade e capacidade reprodutiva de 15 casais emergidos da geração F₁ dos dois tratamentos. O mesmo experimento foi repetido para a geração F₂ de *Aleiodes* sp. nov. para verificar os possíveis efeitos do hospedeiro alimentado com soja transgênica Bt na cadeia trófica. Após a emergência da geração F₂, 15 casais foram formados por tratamento a fim de verificar a longevidade dessa geração.

Para posterior análise enzimática da presença de Cry1Ac nos indivíduos que se desenvolveram nos hospedeiros que se alimentaram desses dois tratamentos, 40 fêmeas e 40 machos de cada tratamento e das duas gerações foram mortos em freezer e transferidos para criotubos (Corning®) e colocados em nitrogênio líquido (-196 °C).

2.5 QUANTIFICAÇÃO DE CRY1AC

A avaliação do impacto de Cry1Ac no terceiro nível trófico foi realizado através de ensaios de imunoabsorção enzimática (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay - ELISA), por meio do Kit QualiPlate para Cry1Ab/Cry1Ac da empresa Envirologix. O teste detecta a presença da proteína Cry1Ac a partir de resíduos presentes no extrato da amostra, as quais se

ligam aos anticorpos produzidos contra a toxina presentes nos poços da placa. Antes do teste, foi realizado o preparo da solução tampão para lavagem, adicionando o conteúdo do sachê (solução salina tamponada com fosfato, pH 7,4 – Tween 20) proveniente do kit juntamente com um litro de água deionizada. Para a extração do material em interesse, foi adicionado 0,5 mL de Tween 20 a 100 ml da solução de tampão de lavagem previamente preparada. A extração do conteúdo enzimático das folhas foi realizada com um pool de três discos foliares (aprox. Ø 10 mm) de cada tratamento, os discos foram inseridos em um tubo Eppendorf® (1,5 mL) contendo 750 microlitros da solução tampão (250 mL:1 disco foliar) de extração e foram homogeneizados com o auxílio de um pistilo. Para a extração do conteúdo enzimático dos insetos, 8 casais de cada tratamento das gerações F₁ e F₂ foram homogeneizados com o auxílio de um pistilo em 250 µL de solução de tampão de extração.

As amostras foram centrifugadas (MPW-351R) a 11400 x g por 10 minutos, a uma temperatura de 24 °C. Em seguida, 50 µL de cada amostra foram pipetados nos respectivos poços pré-determinados no desenho da qualiplata em duplicatas. Após isso, a placa foi coberta com Parafilm® e foi agitada por 2 horas em uma velocidade de 200 rpm. Em sequência, o material dos poços foi eliminado e os poços inundados com solução tampão de lavagem, repetindo esse procedimento por mais 3 vezes. Ao término, a placa foi agitada em um papel toalha a fim de remover o máximo de solução tampão possível. Após esse procedimento, 100 µL de substrato (provido no kit) foram adicionados em cada poço e a placa foi novamente coberta com Parafilm® e incubada no escuro e agitada a uma velocidade de 200 rpm por mais 30 minutos. Ao fim desse tempo, 100 µL de tampão de parada (1.0N ácido clorídrico) foram adicionados em cada poço, e então a placa foi lida no espectrofotômetro Multiskan Sky (Thermo Scientific) a 450 nanômetros.

2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado; para as comparações entre os dois tratamentos os dados foram submetidos a análise de normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk ($P < 0,05$) utilizando o pacote RVAideMemoire (HERVÉ, 2020) e pelo teste de homogeneidade de Bartlett ($P < 0,05$). Quando os pressupostos foram atendidos as médias foram comparadas pelo teste t de Student ($P < 0,05$), ou pelo teste de Welch ($P < 0,05$), em ocasiões de heterocedasticidade. Para a comparação entre os três dias de parasitismo e os valores de absorbância obtidos no teste de ELISA, os dados foram analisados através de Modelo Linear Generalizado (GLM) com distribuição de gaussiana com função de ligação identity, e

quando necessário, comparações múltiplas foram realizadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) utilizando a função `glht` do pacote `Multcomp` (HOTHORN et al., 2008). A longevidade dos adultos oriundos das gerações F_1 e F_2 foram avaliadas usando curva de sobrevivência de Kaplan-Meier, e as médias foram comparadas pelo teste de Log-Rank ($P < 0,05$) utilizando o pacote `Survival` (THERNEAU; GRAMBSCH, 2000). Os dados foram analisados no software R versão 3.6.1 (R CORE TEAM, 2019).

3 RESULTADOS

3.1 PARÂMETROS BIOLÓGICOS

O parasitismo acumulado (Tabela 1) da geração parental (F_0) de *Aleiodes* sp. nov. foi superior a 22 lagartas nos dois tratamentos, sem diferença estatística entre si ($t = 0,360$; $df = 28$, $P = 0,722$). Na geração F_1 , houve um aumento no parasitismo nos dois tratamentos, com a média de lagartas parasitadas acima de 25, porém como na F_0 , sem diferença entre os dois tratamentos ($t = -0,241$; $df = 28$; $P = 0,812$).

A emergência dos parasitoides foi superior a 85% nos dois tratamentos avaliados, não diferindo estatisticamente entre si nas gerações F_1 ($t = 0,424$; $df = 28$; $P = 0,675$) e F_2 ($t = -0,741$; $df = 28$; $P = 0,465$) (Tabela 1) que se desenvolveram em lagartas que se alimentaram de folhas de soja Bt e convencional. A média de parasitoides não emergidos foi menor que um parasitoide por repetição, sem diferença estatística nas gerações F_1 ($t = 0,198$; $df = 28$; $P = 0,845$) e na geração F_2 ($t = 0,375$; $df = 28$; $P = 0,711$) (Tabela 1).

O tempo de desenvolvimento de ovo-pupa para as fêmeas foi semelhante entre os dois tratamentos avaliados nas duas gerações, ficando próximo a 8 dias para a F_1 ($t = -0,041$; $df = 22$; $P = 0,966$), e 9 dias para a F_2 ($t = -0,985$; $df = 23$; $P = 0,335$). Para machos também não houve diferença significativa entre as cultivares, e os valores observados foram de oito dias para a F_1 ($t = -0,160$; $df = 27$; $P = 0,874$) e 8,5 dias na F_2 ($t = 0,900$; $df = 28$; $P = 0,928$).

TABELA 1 – PARASITISMO ACUMULADO (MÉDIA \pm ERRO PADRÃO), DAS GERAÇÕES PARENTAL (F_0) E F_1 E PORCENTAGEM DE EMERGÊNCIA E NÚMERO DE PARASITOIDES NÃO EMERGIDOS DE *Aleiodes* sp. nov. NAS GERAÇÕES F_1 E F_2 CRIADOS EM LAGARTAS DE *Spodoptera eridania* ALIMENTADAS COM SOJA NÃO-Bt (CONVENCIONAL) E Bt. TEMPERATURA DE 25 ± 2 °C, 60% \pm 10 UR E FOTOPERÍODO DE 14:10.

Parâmetros	Geração			
	F_0^{ns}		F_1^{ns}	
	Não-Bt	Bt	Não-Bt	Bt
Parasitismo acumulado (n)	22,20 \pm 6,73	23,13 \pm 7,45	26,47 \pm 4,88	26,00 \pm 5,71
	F_1^{ns}		F_2^{ns}	
Emergência (%)	89,58 \pm 7,86	88,47 \pm 6,48	90,16 \pm 10,08	87,44 \pm 10,01
Parasitoides não-emergidos (n)	0,84 \pm 0,63	0,89 \pm 0,57	0,80 \pm 0,74	0,89 \pm 0,54

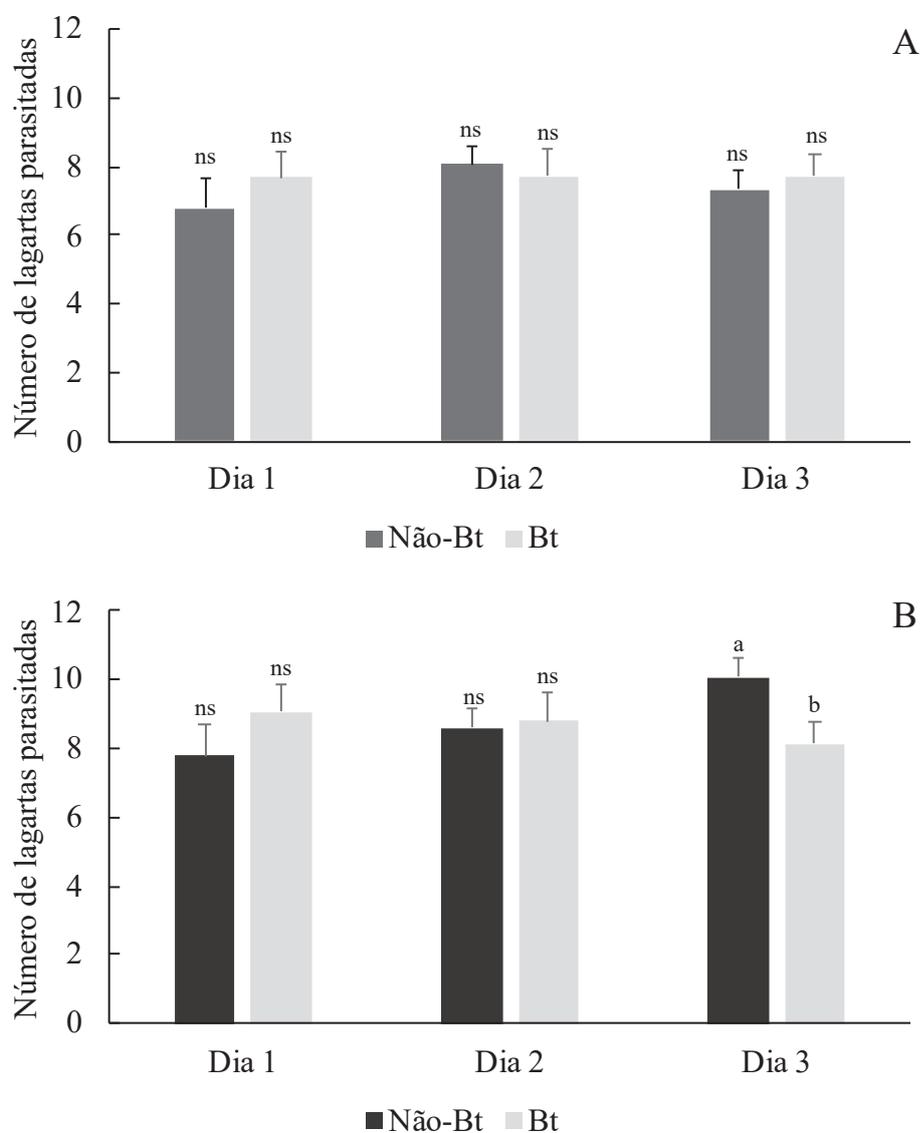
^{ns} Indica que não houve diferença significativa entre os tratamentos pelo teste t de Student ($P < 0,05$).

FONTE: O autor (2021).

Quando comparado o número de lagartas parasitadas entre os três dias de avaliação, não houve diferença na F_0 (Figura 1) de soja convencional ($F = 0,578$; $df = 2$; $P = 0,565$) e soja Bt

($F = 0,02$; $df = 2$; $P = 0,998$), sendo que o parasitismo médio foi de aproximadamente 7 lagartas/dia. Apesar do parasitismo ter sido superior na F_1 (Figura 2), com média acima de 8 lagartas/dia, não houve diferença tanto para soja convencional ($F = 2,88$; $df = 2$; $P = 0,067$) quanto para o tratamento Bt ($F = 0,412$; $df = 2$; $P = 0,665$).

FIGURA 1 - PARASITISMO (MÉDIA \pm ERRO PADRÃO) DE *Aleiodes* sp. nov. DA GERAÇÃO PARENTAL F_0 (A) E NA GERAÇÃO F_1 (B) EM LAGARTAS DE *Spodoptera eridania* ALIMENTADAS COM SOJA CONVENCIONAL E Bt AO LONGO DE TRÊS DIAS DE AVALIAÇÃO. TEMPERATURA DE 25 ± 2 °C, $60\% \pm 10$ UR E FOTOPERÍODO DE 14:10. NS = NÃO SIGNIFICATIVO PELO TESTE DE TUKEY ($P < 0,05$) EM COMPARAÇÕES ENTRE OS TRÊS DIAS DE AVALIAÇÕES. BARRAS COM LETRAS MINÚSCULAS DIFERENTES REPRESENTAM DIFERENÇA ESTATÍSTICA PELO TESTE T DE STUDENT ($P < 0,05$) AVALIANDO O PARASITISMO ENTRE OS DOIS TRATAMENTOS NO MESMO DIA.



FONTE: O autor (2021).

Comparando o número de lagartas parasitadas por dia nos dois tratamentos na geração F_0 (Figura 1 A), estatisticamente não houve diferença no parasitismo no dia 1 ($t = 0,679$; $df =$

28; $P = 0,502$), no dia 2 ($t = -0,273$; $df = 28$; $P = 0,786$) e no dia 3 ($t = 0,347$; $df = 28$; $P = 0,731$), com aproximadamente sete lagartas parasitadas por dia. Na geração F_1 (Figura 1B) também não foram observadas diferenças estatísticas no dia 1 ($t = 1,065$; $df = 28$; $P = 0,296$) e no dia 2 ($t = 0,210$; $df = 28$; $P = 0,835$), com a taxa de parasitismo observada de 8 e 9 lagartas/dia respectivamente. No terceiro dia de avaliação houve diferença entre os dois tratamentos ($t = -2,252$; $df = 28$; $P = 0,032$), sendo que mais lagartas foram parasitadas no tratamento não-Bt (Figura 1B).

O desenvolvimento de pupa a adulto para fêmeas foi em torno de 8 dias na F_1 ($t = -1,169$; $df = 17,402$; $P = 0,258$) e na F_2 ($t = -1,651$; $df = 13,159$; $P = 0,122$) sem diferença entre os tratamentos. Para machos houve diferença significativa entre as duas cultivares tanto na F_1 ($t = -2,665$; $df = 27$; $P = 0,013$), quanto na F_2 ($t = -4,137$, $df = 28$, $P < 0,001$), sendo que o desenvolvimento na cultivar convencional (não-Bt) se mostrou mais longo do que na cultivar Bt (Tabela 2).

TABELA 2 – EFEITO DE SOJA CRY1AC SOBRE O TEMPO DE DESENVOLVIMENTO E PESO DAS PUPAS (MÉDIA \pm ERRO PADRÃO) DA GERAÇÃO F_1 DE *Aleiodes* sp. nov. QUE SE DESENVOLVERAM EM LARVAS DE *Spodoptera eridania* ALIMENTADAS COM SOJA NÃO-Bt (CONVENCIONAL) E BT (25 \pm 2 °C, 60% \pm 10 UR E FOTOPERÍODO DE 14:10).

Parâmetros	Geração F_1	
	Não-Bt	Bt
Tempo de desenvolvimento (dias)		
Fêmea ovo-pupa	8,23 \pm 0,17	8,23 \pm 0,13
Macho ovo-pupa	8,07 \pm 0,11	8,05 \pm 0,11
Fêmea pupa-adulto	8,10 \pm 0,10	7,97 \pm 0,05
Macho pupa-adulto	7,80 \pm 0,06*	7,60 \pm 0,05
Ciclo total fêmea	16,34 \pm 0,12	16,11 \pm 0,17
Ciclo total macho	15,87 \pm 0,14	15,65 \pm 0,12
Peso de pupa (g)	4,20 \pm 0,12	4,07 \pm 0,07
Razão sexual	0,47 \pm 0,07	0,40 \pm 0,07

*Indica diferença estatística entre os tratamentos pelo teste de t Student ou Welch ($P < 0,05$).

FONTE: O autor (2021).

Na geração F_1 não houve diferença no tempo de desenvolvimento ovo-adulto para fêmeas ($t = -1,123$; $df = 22$; $P = 0,273$), e machos ($t = -1,232$; $df = 27$; $P = 0,228$), porém na geração F_2 houve diferença tanto para fêmeas ($t = -2,800$; $df = 16,118$; $P = 0,012$), quanto para machos ($t = -3,229$; $df = 28$; $P = 0,003$), havendo um prolongamento no ciclo para os indivíduos que se desenvolveram em lagartas que se alimentaram da cultivar convencional. O peso das pupas não diferiu entre os tratamentos na geração F_1 ($t = -0,935$, $df = 22,106$; $P = 0,36$), porém

na geração F₂ as pupas oriundas do Bt foram mais pesadas que as da cultivar convencional ($t = 2,199$; $df = 18,053$; $P = 0,004$).

TABELA 3 – EFEITO DE SOJA CRY1AC SOBRE O TEMPO DE DESENVOLVIMENTO E PESO DAS PUPAS (MÉDIA ± ERRO PADRÃO) DA GERAÇÃO F₂ DE *Aleiodes* sp. nov. QUE SE DESENVOLVERAM EM LAGARTAS DE *Spodoptera eridania* ALIMENTADAS COM SOJA CONVENCIONAL E SOJA BT. TEMPERATURA DE 25 ± 2 °C, 60% ± 10 UR E FOTOPERÍODO DE 14:10H.

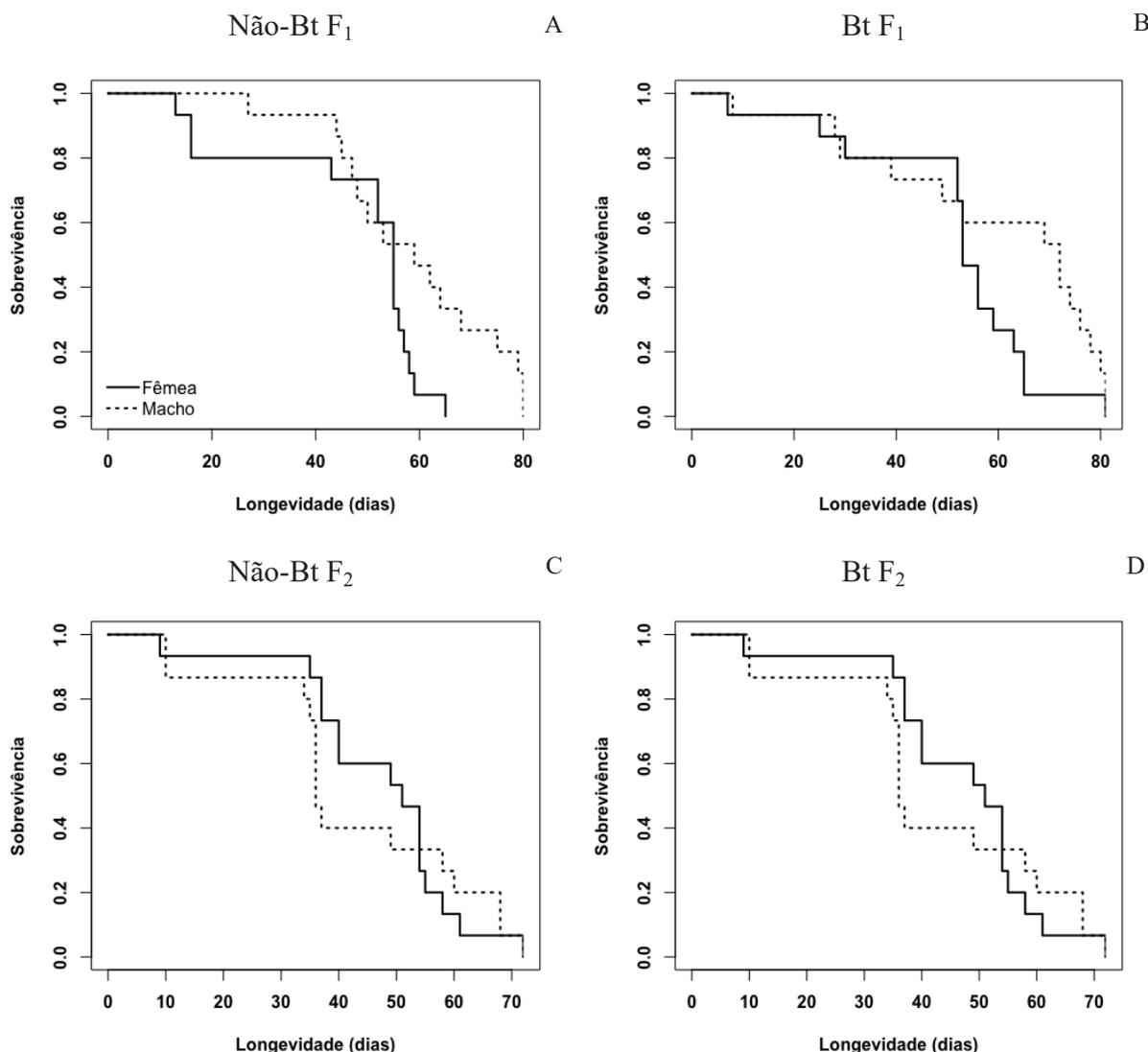
Parâmetros	Geração F ₂	
	Não-Bt	Bt
Tempo de desenvolvimento (dias)		
Fêmea ovo-pupa	9,05 ± 0,06	8,93 ± 0,11
Macho ovo-pupa	8,66 ± 0,07	8,67 ± 0,07
Fêmea pupa-adulto	7,84 ± 0,06	7,49 ± 0,20
Macho pupa-adulto	7,84 ± 0,06*	7,44 ± 0,07
Ciclo total fêmea	16,90 ± 0,07*	16,42 ± 0,15
Ciclo total macho	16,50 ± 0,06*	16,11 ± 0,10
Peso de pupa (mg)	4,07 ± 0,07*	4,53 ± 0,19
Razão sexual	0,51 ± 0,08	0,38 ± 0,08

*Indica diferença estatística entre os tratamentos pelo teste de t Student ou Welch ($P < 0,05$)

FONTE: O autor (2021).

A longevidade média dos adultos (Figura 2) nas duas gerações foi superior a 40 dias, tanto para machos quanto para fêmeas, não sendo detectadas diferenças estatísticas nas gerações F₁ ($\chi^2 = 4,1$; $df = 1$; $P = 0,04$) e F₂ ($\chi^2 = 0$; $df = 1$; $P = 0,8$) tanto de adultos oriundos de soja convencional, quanto de adultos oriundos de soja Bt na F₁ ($\chi^2 = 2,6$; $df = 1$; $P = 0,1$) e na F₂ ($\chi^2 = 0$; $df = 1$; $P = 0,9$).

FIGURA 2 - LONGEVIDADE (DIAS) DAS GERAÇÕES F₁ E F₂ DE *Aleiodes* sp. nov. ORIUNDOS DE SOJA CONVENCIONAL (NÃO-Bt) E SOJA TRANSGÊNICA Bt. TEMPERATURA DE 25 ± 2 °C, 60% ± 10 U.R. E FOTOPERÍODO DE 14:10H. COMPARAÇÃO DAS CURVAS SEM DIFERENÇA ESTATÍSTICA PELO TESTE DE LOG-RANK.

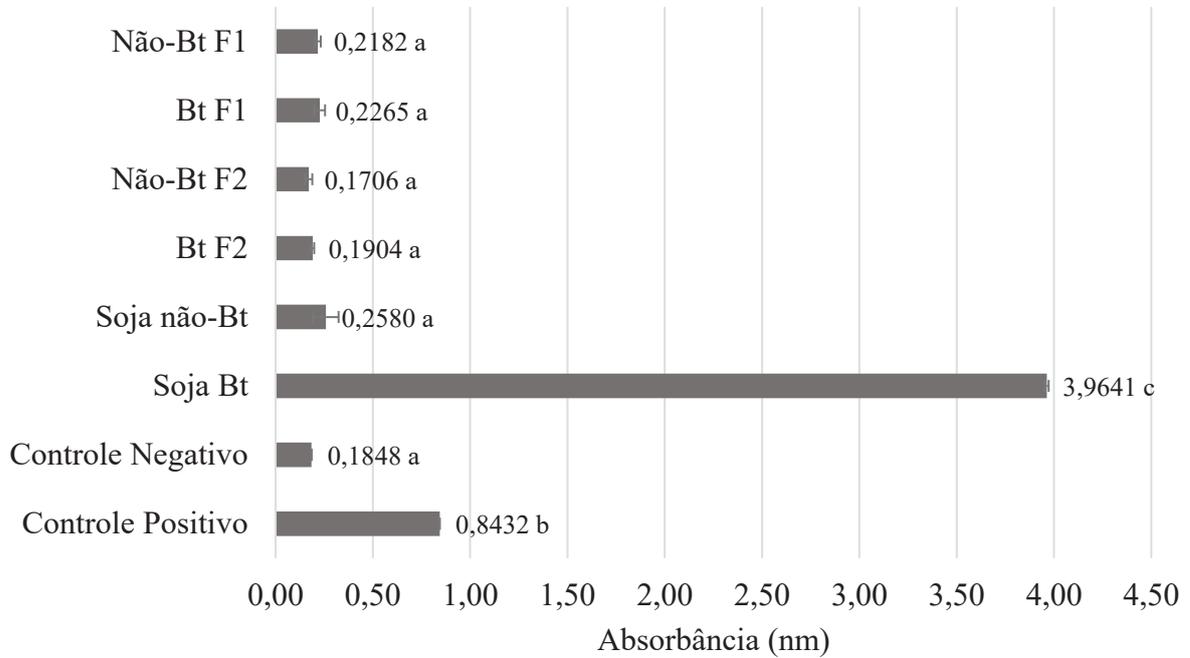


FONTE: O autor (2021).

3.2 DETECÇÃO DA PROTEÍNA CRY1AC

Não foi detectada a proteína Cry1Ac no terceiro nível trófico (Figura 3); quando comparados os valores médios de absorbância houve diferença significativa ($F = 1746,4$; $df = 1$, $n = 40$, $P < 0,001$), mas essa diferença é observada apenas em relação ao controle positivo de Cry1Ac (0,8432) e as folhas de soja Bt (3,9641) que diferiram significativamente dos demais tratamentos, e estes por sua vez, apresentaram valores de absorbância próximos aos valores do controle negativo, mostrando que não houve detecção dessa proteína nos demais tratamentos.

FIGURA 3 - VALORES DE ABSORBÂNCIA (MÉDIA \pm ERRO PADRÃO) DETECTADOS EM FOLHAS DE SOJA Bt E NÃO-Bt E NO TERCEIRO NÍVEL TRÓFICO NAS GERAÇÕES F₁ E F₂ DO PARASITOIDE *Aleiodes* sp. nov. QUE SE DESENVOLVERAM EM HOSPEDEIROS ALIMENTADOS COM FOLHAS DE SOJA DOS MESMOS TRATAMENTOS. MÉDIAS SEGUIDAS DA MESMA LETRA NÃO DIFEREM ENTRE SI ESTATISTICAMENTE PELO TESTE DE TUKEY (P < 0,05).



FONTE: O autor (2021).

4 DISCUSSÃO

Nenhum dos parâmetros biológicos de *Aleiodes* sp. nov. foi afetado quando os parasitoides se desenvolveram e se reproduziram por duas gerações consecutivas em lagartas que se alimentaram de soja Bt, em comparação àqueles criados em lagartas alimentadas com soja convencional (não-Bt). Este é o primeiro relato sobre o desenvolvimento e reprodução de uma espécie de *Aleiodes*, a qual, por parasitar lagartas de segundo instar, indica se tratar de um parasitoide eficiente, pois em menos de 10 dias o parasitoide completa o estágio larval e mata o hospedeiro. Observações visuais durante a execução dos experimentos mostraram que as lagartas parasitadas diminuem continuamente a alimentação até cessar por completo, por volta do quarto ou quinto dia após o parasitismo.

Grande parte dos estudos que avaliaram o impacto de proteínas Bt em inimigos naturais foram inconclusivos quanto ao seu efeito deletério, uma vez que utilizaram hospedeiros suscetíveis às proteínas. Nessas circunstâncias, como o hospedeiro é afetado, o parasitoide que se desenvolve no seu interior poderá sofrer efeitos subletais (exposição indireta) e não completar o desenvolvimento (ROMEIS et al., 2006; ROMEIS et al., 2011). O desenvolvimento do parasitoide *Cotesia marginiventris* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae) foi incompleto em lagartas de *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) alimentadas com folhas de milho Bt contendo a proteína Cry1Ab; no entanto a população de *S. littoralis* utilizada é suscetível à proteína avaliada e a morte dos parasitoides foi decorrente da baixa qualidade do hospedeiro e não devido ao consumo da proteína Cry1Ab contida nas lagartas (VOJTECH; MEISSLE; POPPY 2005). Ramirez-Romero et al. (2007) avaliaram o impacto de Cry1Ab em milho Bt a *C. marginiventris* se desenvolvendo em *S. frugiperda* e concluíram que efeitos mediados pelo hospedeiro afetaram o desenvolvimento do parasitoide. Atualmente, *S. frugiperda* já desenvolveu resistência a Cry1Ab e a outras proteínas de *B. thuringiensis* em populações encontradas em campo no Brasil e em outros países (HORIKOSHI et al., 2016; OMOTO et al., 2016; CHANDRASENA et al., 2018; MACHADO et al., 2020), o que evidencia a importância de se avaliar o impacto de proteínas Cry em inimigos naturais, pois parasitoides e predadores podem retardar a evolução da resistência e também controlar insetos já resistentes a esta tecnologia (LIU et al. 2014, ROMEIS et al. 2019).

A interpretação incorreta dos efeitos de plantas Bt a parasitoides quando se utilizam hospedeiros suscetíveis às proteínas Bt, pode trazer consequências para o uso e orientações técnicas, além de prejudicar as tomadas de decisão e distorcer prioridades de pesquisa (ROMEIS et al., 2013). Estudos utilizando populações de hospedeiros resistentes à proteína

avaliada, garantem maior confiabilidade aos resultados (ROMEIS et al., 2011); nesse sentido, poucos estudos foram realizados utilizando hospedeiros resistentes ou tolerantes às proteínas Cry. O parasitismo e o desenvolvimento do endoparasitoide *Cotesia plutellae* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Braconidae) foi comparado em populações suscetível e resistente de *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Plutellidae) a Cry1Ac. Na população suscetível ao Bt, a morte prematura de *P. xylostella* interrompeu o desenvolvimento de *C. plutellae*; já na população resistente, o parasitoide completou o seu desenvolvimento (SCHULER et al., 2004). Tian et al. (2013) avaliaram o desenvolvimento de *C. marginiventris* em uma população de *S. frugiperda* resistente a Cry1F durante cinco gerações consecutivas, e não constataram nenhum efeito negativo nos parâmetros biológicos avaliados e não detectaram o acúmulo da proteína em adultos do parasitoide pelo teste de ELISA. Avaliando as proteínas Cry1Ac e Cry2Ab em algodão nos parasitoides *C. marginiventris* e *Copidosoma floridanum* (Ashmead) (Hymenoptera: Encyrtidae) desenvolvendo-se em uma população de *Trichoplusia ni* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) resistente a estas proteínas, nenhum efeito adverso foi observado para ambas as espécies de parasitoides (TIAN et al., 2018). O parasitismo e a emergência de *Diadegma insulare* (Cresson) (Hymenoptera: Ichneumonidae) em uma população de *P. xylostella* resistente a Cry1Ac foi comparado com o efeito dos inseticidas espinosade, cipermetrina, lambdacialotrina e indoxacarbe, usualmente utilizados para o controle dessa lagarta. A ingestão de plantas Bt pelas lagartas não afetou os parâmetros avaliados, enquanto os inseticidas reduziram significativamente a taxa de parasitismo e emergência (CHEN et al. 2008). Com o intuito de eliminar o efeito da qualidade do hospedeiro, Wang et al. (2020) injetaram Cry2Aa na hemolinfa de larvas de *Plodia interpunctella* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae) e avaliaram o desenvolvimento do parasitoide *Habrobracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae), não observando nenhum efeito negativo na biologia do parasitoide.

Efeitos adversos são comumente observados em parasitoides que se desenvolveram em espécies de lepidópteros-hospedeiros suscetíveis às proteínas Bt (ROMEIS et al., 2006). Estes efeitos são mediados pela qualidade do hospedeiro (NARANJO, 2009); no presente estudo, o hospedeiro utilizado (*S. eridania*) é naturalmente tolerante à toxina Cry1Ac (BERNARDI et al., 2014), eliminando a possibilidade dos resultados observados serem atribuídos à má qualidade nutricional do hospedeiro (ROMEIS et al., 2011).

Nossos resultados demonstraram que não houve efeito deletério nos parâmetros biológicos de *Aleiodes* sp. nov. nas gerações F₁ e F₂ que se desenvolveram em larvas de *S. eridania* alimentadas com folhas de soja Bt contendo Cry1Ac. Naranjo (2009) discute que

quando o hospedeiro fornecido é de alta qualidade, o desenvolvimento de parasitoides é equivalente em hospedeiros expostos ou não às proteínas Bt, e há casos onde é possível constatar um aumento no desempenho reprodutivo quando os parasitoides recebem hospedeiros de alta qualidade que foram expostos às proteínas do Bt, em comparação com os controles não-Bt. Neste estudo, além da diminuição do tempo de desenvolvimento, o peso das pupas da F₂ foi significativamente maior no tratamento Bt em comparação ao tratamento com soja convencional. Schuler et al. (2004) também observaram peso pupal aproximadamente 20% superior em *C. plutellae* que se desenvolveu em plantas Bt - Cry1Ac.

Entre 87 e 90% dos parasitoides de *Aleiodes* sp. nov. emergiram com sucesso dos hospedeiros que se alimentaram de folhas das cultivares Bt e não-Bt, e a razão sexual entre as cultivares e progênies foram estatisticamente similares. A razão sexual é um fator determinante no estabelecimento de uma espécie no campo em programas de controle biológico e também no controle de qualidade de criações massais (HEINZ, 1998; ODE; HARDY, 2008).

O resultado da análise enzimática confirma que não houve transferência de Cry1Ac para adultos da geração F₁ e F₂ de *Aleiodes* sp. nov. que se desenvolveram em lagartas de *S. eridania* alimentadas com folhas de soja Bt. O elevado valor de absorvância do tratamento de folha de soja Bt demonstra que a concentração de Cry1Ac expressa nas folhas era muito expressiva, chegando a exceder os valores limites de leitura do espectrofotômetro, enquanto os valores contidos em folha de soja convencional foram próximos ao controle negativo. No entanto, a extensão em que um parasitoide pode ser afetado pelos efeitos mediados pelo hospedeiro ou pela presença de proteínas Cry dependem diretamente da biologia do parasitoide (VOJTECH; MEISSLE; POPPY, 2005). Por exemplo *C. marginiventris* se alimenta apenas de uma parte do corpo do hospedeiro (VOJTECH; MEISSLE; POPPY, 2005) enquanto *Campoletis sonorensis* (Carlson) e *C. floridanum* se alimentam de todo o corpo do hospedeiro (WILSON; RIDGWAY, 1975; TIAN et al., 2018), tornando-os mais expostos a possíveis efeitos adversos. Para *Aleiodes* essa informação ainda não foi esclarecida, havendo a possibilidade dos resultados observados serem decorrentes do parasitoide não consumir o intestino do seu hospedeiro, local onde Cry1Ac estaria em maior concentração.

Os resultados mostraram que *Aleiodes* sp. nov. tem um elevado potencial para o controle de populações de *S. eridania* naturalmente tolerantes a soja que expressa a toxina Cry1Ac, não tendo os seus parâmetros biológicos afetados por essa proteína. Tais resultados coincidem com os resultados anteriores obtidos por Schuler et al. (2004), Chen et al. (2008), Tian et al. (2013) e Tian et al. (2018), que confirmam a ausência de efeitos deletérios de proteínas Cry em parasitoides da ordem Hymenoptera. Neste cenário, o uso de parasitoides contribui para a

redução do emprego de inseticidas químicos para espécies que não sejam controladas pela tecnologia Bt.

REFERÊNCIAS

- ABREU, C.I.V.; SHIMBORI, E.M.; FILHO, M.M.D.; PENTEADO-DIAS, A.M.; A new species of *Aleiodes* (Hymenoptera: Braconidae, Rogadinae) from Brazil, with biological notes. **Iheringia**, v.104, p.113-117, 2014.
- BERNARDI, OD.; MALVESTITI, G.S.; DOURADO, P.M.; OLIVEIRA, W.S.; MARTINELLI, S.; BERGER, G.U.; HEAD, G.P.; OMOTO, C. Assessment of the high-dose concept and level of control provided by MON 87701 x MON 89788 soybean against *Anticarsia gemmatalis* and *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Pest Management Science**, v.68, p. 1083-1091, 2012.
- BERNARDI, O.; SORGATTO, R. J.; BARBOSA, A. D.; DOMINGUES, F. A.; DOURADO, P. M.; CARVALHO, R. A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G.P.; OMOTO, C. Low susceptibility of *Spodoptera cosmioides*, *Spodoptera eridania* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to genetically-modified soybean expressing Cry1Ac protein. **Crop Protection**, v. 58, p. 33-40, 2014.
- BERNARDI, D.; SALMERON, E.; HORIKOSHI, R.J.; BERNARDI, O.; DOURADO, P.M.; CARVALHO, R.A.; MARTINELLI, S.; GRAHAM, P.H.; OMOTO, C. Cross-Resistance between Cry1 Proteins in Fall Armyworm (*Spodoptera frugiperda*) May Affect the Durability of Current Pyramided Bt Maize Hybrids in Brazil. **Plos One**, v. 10, doi: 10.1371/journal.pone.0140130, 2015.
- BLANCO, C.A.; CHARAVALLE, W.; DALLA-RIZZA, M.; FARIAS, J.R.; GARCÍA-DEGANO, M.F.; GASTAMINZA, G.; MOTA-SÁNCHEZ, D.; MURÚA, M.G.; OMOTO, C.; PIERALISI, B.K.; RODRÍGUEZ, J.; RODRÍGUEZ-MACIEL, J.C.; TERÁN-SANTOFIMIO, H.; TERÁN-VARGAS, A.P.; VALENCIA, S.J.; WILINK, E. Current situation of pests targeted by Bt crops in Latin America. **Current Opinion in Insect Science**, v.15, p.131-138, 2016.
- BORTOLOTTO, O.C.; SILVA, G.V.; BUENO, A.F.; POMARI, A.F.; MARTINELLI, S.; HEAD, G.P.; CARVALHO, R.A.; BARBOSA, G.C. Development and reproduction of *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) and its egg parasitoid *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) on the genetically modified soybean (Bt) MON 87701 x MON 89788. **Bulletin of Entomological Research**, v.104, p.724-730, 2014.
- BROOKES, G. The farm level economic and environmental contribution of Intacta soybeans in South America: the first years. **GM Crops & Food**, v.9, p. 140-151, 2018.
- BUENO, A.F.; PANIZZI, A.R.; HUNT, T.E.; DOURADO, P.M.; PITTA, R.M.; GONÇALVES, J. Challenges for adoption of Integrated Pest Management (IPM): the soybean example. **Neotropical Entomology**, v.50, p.5-20, 2021.
- CHANDRASENA, D.I.; SIGNORINI, A.M.; ABRATTI, G.; STORER, N.P.; OLACIREGUI, M.L.; ALVES, A.P.; PILCHER, C.D. Characterization of field-evolved resistance to *Bacillus thuringiensis*-derived Cry1F δ -endotoxin in *Spodoptera frugiperda* populations from Argentina. **Pest Management Science**, v.74, p.746-754, 2018.

CHANG, X.; LU, Z.; SHEN, Z.; PENG, Y.; YE, G. Biotrophic and tritrophic effects of transgenic cry1Ab/cry2Aj Maize on the beneficial, nontarget *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). **Environmental Entomology**, v.46, p.1171-1176, 2017.

CHEN, M.; ZHAO, J-Z.; COLLINS, H.L.; EARLE, E.D.; CAO, J.; SHELTON, A.M. A critical assessment of the effects of Bt transgenic plants on parasitoids. **Plos One**, v.3, e2284, 2008.

FARIAS, J.R.; ANDOW, D.A.; HORIKOSHI, R.J.; SORGATTO, R.J.; FRESIA, P.; SANTOS, A.C.; OMOTO, C. Field-evolved resistance to Cry1F maize by *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Crop Protection**, v.64, p.150-158, 2014.

GARRO, L.S.; SHIMBORI, E.M.; PENTEADO-DIAS, A.M.; SHAW, S.R. Four new species of *Aleiodes* (Hymenoptera: Braconidae: Rogadinae) from the Neotropical Region. **The Canadian Entomologist**, v.149, p.1-14, 2017.

HEINZ, K.M. Host size-dependent sex allocation behaviour in a parasitoid: implications for *Catolaccus grandis* (Hymenoptera: Pteromalidae) mass rearing programmes. **Bulletin of Entomological Research**, v.88, p.37-45, 1998.

HERVE, M. RVAideMemoire: Testing and plotting procedures for biostatistics. R package version 0.9-78. <https://CRAN.R-project.org/package=RVAideMemoire>.

HORIKOSHI, R.J.; BERNARDI, D.; BERNARDI, O.; MALAQUIAS, J.B.; OKUMA, D.M.; MIRALDO, L.L.; AMARAL, F.S.A.; OMOTO, C. Effective dominance of resistance of *Spodoptera frugiperda* to Bt maize and cotton varieties: implications for resistance management. **Scientific reports**, v.6, 34864, doi:10.1038/srep34864, 2016.

HOTHORN, T.; BRETZ, F.; WESTFALL, P. Simultaneous inference in general parametric models. B Simultaneous inference in general parametric models. **Biometrical Journal**, v.50, p.346–363, 2008.

KLÜMPER, W.; QAIM, M. A meta-analysis of the impacts of genetically modified crops. **Plos One**, 9, e111629, doi: 10.1371/journal.pone.0111629, 2014.

KOS, M., van LOON, J.J.A., DICKE, M., VET, L.E.M. Transgenic plants as vital components of integrated pest management. **Trends in Biotechnology**, v.27, p.621-627, 2009.

LIU, X.; CHEN, M.; COLLINS, H.L.; ONSTAD, D.W.; ROUSH, R.T.; ZHANG, Q.; EARLE, E.D.; SHELTON, A.M. Natural enemies delay insect resistance to Bt crops. **Plos One**, v.9, e90366, doi:10.1371/journal.pone.0090366, 2014.

LUTTRELL, R.G.; WAN, L.; KNIGHTEN, K. Variation in susceptibility of noctuid (Lepidoptera) larvae attacking cotton and soybean to purified endotoxin proteins and commercial formulations of *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Economic Entomology**, v.92, p21-32, 1999.

MACHADO, E.P.; RODRIGUES JUNIOR, G.L.S.; FÜHR, F.M.; ZAGO, S.L.; MARQUES, L.H.; SANTOS, A.C.; NOWATZKI, T.; DAHMER, M.L.; OMOTO, C.; BERNARDI, O. Cross-crop resistance of *Spodoptera frugiperda* selected on Bt maize to genetically-modified

soybean expressing Cry1Ac and Cry1F proteins in Brazil. **Scientific Reports**, v.10. 10080, doi:10.1038/s41598-020-67339-1, 2020.

MARCHIORO, C.A.; FOERSTER, L.A. Performance of the wheat armyworm, *Pseudaletia sequax* Franclemont, on natural and artificial diets. **Neotropical Entomology**, v.41, p.288-295, 2012.

MEDINA, R.F.; BARBOSA, P. The role of host plant species in the phenotypic differentiation of sympatric populations on *Aleiodes nolophanae* and *Cotesia marginiventris*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.128, p.14-26, 2008.

NARANJO, S.E. Impacts of Bt crops on non-target invertebrates and insecticide use patterns. **CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**, v.4, 2009.

ODE, P.J.; HARDY, I.C.W. Parasitoid sex ratios and biological control. In: WAJNBERG, E.; BERNSTEIN, C; van ALPHEN, J. **Behavioral ecology of insect parasitoids: from theoretical approaches to field applications**. Wiley, Blackwell, 2007, 253-291p.

OMOTO, C.; BERNARDI, O.; SALMERON, E.; SORGATTO, R.J.; DOURADO, P.M.; CRIVELLARI, A.; CARVALHO, R.A.; WILSE, A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G.P. Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. **Pest Management Science**, v.79, p. 1727-1736, 2016.

PAULA, D.P.; ANDOW, D.A. Uptake and bioaccumulation of Cry toxins and aphidophagous predator. **Environmental Pollution**, v.209, p.164-168, 2016.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>, 2019.

RAMIREZ-ROMERO, R.; BERNAL, J.S.; CHAUFAX, J.; KAISER, L. Impact assessment of Bt-maize on a moth parasitoid, *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae), via host exposure to purified Cry1ab protein or Bt-plants. **Crop Protection**, v.26, p.953-962, 2007.

ROMEIS, J.; MEISSLE, M.; BIGLER, F. Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. **Nature Biotechnology**, v.24, p. 63-71, 2006.

ROMEIS, J.; BARTSCH, D.; BIGLER, F.; CANDOLFI, M.P.; GIELKENS, M.M.C.; HARTLEY, S.E.; HELLMICH, R.L.; HUESING, J.E.; JEPSON, P.S.; LAYTON, R.; QUEMADA, H.; RAYBOULD, A.; ROSE, R.I.; SCHIEMANN, J.; SEARS, M.K.; SHELTON, A.M.; SWEET, J.; VAITUZIS, Z.; WOLT, J.D. Assessment of risk of insect-resistant transgenic crops to nontarget arthropods. **Nature Biotechnology**, v.26, p. 203-208, 2008.

ROMEIS, J.; HELLMICH, R.L.; CANDOLFI, M.P.; CARSTENS, K.; De SCHRIJVER, A.; GATEHOUSE, A.M.R.; HERMAN, R.A.; HUESING, J.E.; McLEAN, M.A.; RAYBOULD, A.; SHELTON, A.M.; WAGGONER, A. Recommendations for the design of laboratory studies on non-target arthropods for risk assessment of genetically engineered plants. **Transgenic Research**, v.20. p.1-22, 2011.

ROMEIS, J.; McLEAN, M.A.; SHELTON, A.M. When bad science makes good headlines: the case of Bt maize and regulatory bans. **Nature Biotechnology**, v.31, p. 386-387, 2013.

ROMEIS, J.; NARANJO, S.E.; MEISSLE, M.; SHELTON, A.M. Genetically engineered crops help support conservation biological control. **Biological Control**, v.130, p.136-154, 2019.

SCHULER, T.H.; DENHOLM, I.; CLARK, S.J.; STEWART, C.N.; POPPY, G.M. Effects of Bt plants on the development and survival of the parasitoid *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae) in susceptible and Bt-resistant larvae of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Journal of Insect Physiology**, v.50, p.435-443, 2004.

SHAW, S.R.; SHIMBORI, E.M.; PENTEADO-DIAS, A.M. A revision of the *Aleiodes bakeri* (Brues) species subgroup of the *A. seriatus* species group with the description of 18 new species from the Neotropical Region. **ZooKeys**, v.964, p.41-107, 2020.

SHAW, S.R.; MARSH, P.M.; TALLUTO, M.A. Revision of North American *Aleiodes* (Part 9): the pallidator (Thunberg) species-group with description of two new species (Hymenoptera: Braconidae, Rogadinae). **Zootaxa**, v.3608, p.204-214, 2013.

SHELTON, A.M.; ZHAO, J.Z.; ROUSH, R.T. Economic, ecological, food safety, and social consequences of the deployment of Bt transgenic plants. **Annual Review of Entomology**, v.47, p.845-881, 2002.

SHELTON, A.M.; NARANJO, S.R.; ROMEIS, J.; HELLMICH, R.L.; WOLT, J.D.; FEDERICI, B.A.; ALBAJES, R.; BIGLER, F.; BURGESS, E.P.J.; DIVELY, G.P.; GATEHOUSE, A.M.R.; MALONE, L.A.; ROUSH, R.; SEARS, M.; SEHNAL, F.; FERRY, N.; BELL, H.A. Appropriate analytical methods are necessary to assess nontarget effects of insecticidal proteins in GM crops through meta-analysis (Response to Andow et al. 2009). **Environmental Entomology**, v.38, p.1533-1538, 2009.

SHIMBORI, E.M.; SHAW, S.R. Twenty-four new species of *Aleiodes* Wesmael from the eastern Andes of Ecuador with associated biological information (Hymenoptera, Braconidae, Rogadinae). **Zookeys**, v.7402, p.1-81, 2014.

TIAN, J.-C.; WANG, X.-P.; LONG, L.-P.; ROMEIS, J.; NARANJO, S.E.; HELLMICH, R.L.; SHELTON, A.M. Eliminating host-mediated effects demonstrates Bt maize producing Cry1F has no adverse effects on the parasitoid *Cotesia marginiventris*. **Transgenic Research**, v.23, p.257-264, 2013.

TIAN, J.-C.; WANG, X.-P.; CHEN, Y.; ROMEIS, J.; NARANJO, S.E.; HELLMICH, R.L.; WANG, P.; SHELTON, A.M. Bt cotton producing Cry1Ac and Cry2Ab does not harm two parasitoids, *Cotesia marginiventris* and *Copidosoma floridanum*. **Scientific Reports**, 8:307, doi: 10.1038/s41598-017-18620-3, 2018.

THERNEAU, T.M.; GRAMBSCH, P.M. Modeling survival data: extending the cox model. **Springer**, Nova Iorque, 350p., 2000.

VOJTECH, E.; MEISSLE, M. POPPY, G.M. Effects of Bt maize on the herbivore *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) and the parasitoid *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae). **Transgenic Research**, v.14, p.133-144, 2005.

WANG, Z.-X.; LI, Y.-H.; HE, K.-L.; BAI, S.-X.; ZHANG, T.-T.; CAI, W.-Z.; WANG, Z.-Y. Does *Bt* maize expressing Cry1Ac protein have adverse effects on the parasitoid *Macrocentrus cingulum* (Hymenoptera: Braconidae)? **Insect Science**, doi: 10.1111/1744-7917.12352, 2016.

WANG, Z.; CAI, W.; WANG, Q.; ZHAO, J.; LI, Y.; ZOU, Y.; ELGIZAWY, K.K.; HUA, H. Assessing the effects of Cry2Aa protein on *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 110380, doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.110380, 2020.

WILSON, D.D.; RIDWAY, R.L. Morphology, development, and behaviour of the immature stages of the parasitoid, *Campoletis sonorensis* (Hymenoptera: Ichneumonidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v.68, p.191-196, 1975.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos nesta tese fornecem informações relacionadas a novos agentes de controle biológico na cultura da soja, principalmente para o controle de lepidópteros que apresentam tolerância natural à proteína Cry1Ac, como é o caso de espécies do gênero *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae).

Proveniente do levantamento de espécies de lagartas que ocorrem em área de soja Bt, além do primeiro registro de *Peridroma saucia* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), verificou-se um aumento expressivo na abundância de espécies do complexo *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae) de uma safra para outra, indicando a possível adaptação das espécies desse gênero às cultivares transgênicas que expressam a proteína Cry1Ac na soja. A presença expressiva de parasitoides larvais em taxas similares na área Bt (22 %) e não-Bt (25 %) indica a viabilidade da utilização do controle biológico natural em harmonia com a tecnologia Bt; na área não-Bt, sete espécies a mais de hospedeiros foram coletadas em comparação com a área Bt, e essa maior riqueza pode influenciar no parasitismo, ao proporcionar uma maior gama de hospedeiros aos parasitoides.

Apesar das identificações das espécies de parasitoides larvais ainda não estarem totalizadas, a descoberta de *Aleiodes* sp. nov. parasitando *Spodoptera cosmioides* (Walker) e *Spodoptera eridania* (Stoll), as duas principais lagartas encontradas na área Bt, incentiva a continuidade de estudos nessa área. A possibilidade de efeito adverso na biologia, ou de transferência de Cry1Ac entre níveis tróficos para esse parasitoide, foi descartada pela análise de ELISA, quando o parasitoide se desenvolveu em lagartas de *S. eridania* previamente alimentadas com soja Bt. As pesquisas iniciais com *Aleiodes* sp. nov. indicam se tratar de um eficiente agente de controle, pois parasita as lagartas nos instares iniciais e em poucos dias causa a suspensão da sua alimentação, demonstrando seu potencial para o controle de *Spodoptera* spp.

Em relação aos parasitoides de ovos, três novas espécies já foram confirmadas; duas aguardam o envio para publicação, e uma, *Trichogramma foersteri* Takahashi, foi publicada dentro do período de execução da tese. *Trichogramma foersteri*, apresenta capacidade de parasitismo nunca antes registrada para nenhuma outra espécie de ocorrência na América do Sul, e, além disso, provoca uma alta taxa de mortalidade não reprodutiva, caracterizada pela inviabilização de uma quantidade expressiva dos ovos após esgotar a capacidade total de parasitismo. Quando ofertados ovos dos principais lepidópteros-praga presentes na agricultura brasileira, *T. foersteri* parasitou os ovos das 13 espécies que foram testadas, destacando-se as

três espécies de *Spodoptera* e *P. saucia* que ocorreram na área de estudo Bt. Tais resultados demonstram o elevado potencial desse parasitoide, especialmente para o controle de lepidópteros naturalmente tolerantes ou resistentes as proteínas do Bt. Além disso, nesse estudo, foi registrada pela primeira vez, a ocorrência natural, de *Telenomus remus* Nixon no Sul do Brasil. O local de coleta, no município de São José dos Pinhais, região metropolitana de Curitiba, está a uma distância de aproximadamente 600 km da cidade de Araras (SP), localidade mais próxima de onde se tem informação de experimentos com inundações de *T. remus*.

Por fim, foi possível concluir que a soja Bt não causou nenhum efeito direto a comunidade de parasitoides larvais ou de ovos. A possível baixa quantidade de hospedeiros disponíveis aos parasitoides nos cultivos Bt parece não ter afetado a ação, tanto de parasitoides de ovos, quanto larvais. A expressiva biodiversidade de parasitoides encontrada neste estudo pode estar relacionada ao fato das pesquisas de campo terem sido realizadas em área em cujo entorno existem fragmentos de paisagem natural, além da grande diversidade de outras culturas próximas aos locais de coleta, que muito diferem das grandes extensões de monocultivo que ocorrem no Brasil. Tal hipótese é corroborada pela captura das sete espécies de *Trichogramma* Westwood em ovos de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Erebidae), enquanto apenas *Trichogramma pretiosum* Riley, foi coletado em ovos de *A. gemmatalis* e *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) em soja no estado de Mato Grosso.

Os resultados comprovam que há controle biológico natural em soja Bt, sendo viável recomendar a associação dessa ferramenta nesse sistema de cultivo. A continuidade dos estudos relacionados à bioprospecção de inimigos naturais em campo deve ser incentivada, uma vez que, como comprovado pela grande quantidade e diversidade de parasitoides coletados em soja transgênica, há muito ainda a ser descoberto em prol do controle biológico aplicado.

REFERÊNCIAS

- ABBOT, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v.18, p.265–267, 1925
- ABRAM, P.K.; BRODEUR, J.; BURTE, V.; BOIVIN, G. Parasitoid-induced host egg abortion: an underappreciated component of biological control services provided by egg parasitoids. **Biological Control**, v.98, p.52–60, 2016.
- ABRAM, P.K.; BRODEUR, J.; URBANEJA, A.; TENA, A. Nonreproductive effects of insect parasitoids on their hosts. **Annual Review of Entomology**, v. 64, p.259–276, 2019.
- ABREU, C.I.V.; SHIMBORI, E.M.; FILHO, M.M.D.; PENTEADO-DIAS, A.M.; A new species of *Aleiodes* (Hymenoptera: Braconidae, Rogadinae) from Brazil, with biological notes. **Iheringia**, v.104, p.113-117, 2014.
- AGGARWAL, N.; BRAR, D.S.; BASEDOW, T. Insecticide resistance management of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) and its effect on pests and yield of cotton in north india. **Journal of Plant Diseases and Protection**,v.113, p.120-127, 2006.
- ALTSCHUL, S.F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E.W.; LIPMAN, D.J. Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology**, v. 215, p.403-410, 1990.
- ANDERSON, J.A.; ELLSWORTH, P.C.; FARIA, J.C.; HEAD, G.P.; OWEN, M.D.K.; PILCHER, C.D.; SHELTON, A.M.; MEISSLE, M. Genetically engineered crops: importance of diversified integrated pest management for agricultural sustainability. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, doi:10.3389/fbioe.2019.00024, 2019.
- ANDOW, D.A.; HILBECK, A. Science-based risk assessment for nontarget effects of transgenic crops. **Bioscience**, v.54, p. 637-649, 2004.
- AVALOS, S.; MAZZUFERI, V.; PORTA, N. La.; SERRA, G.; BERTA, C. El complejo parasítico (Hymenoptera y Diptera) de larvas de *Anticarsia gemmatalis* Hüb. Y *Rachiplusia nu* Guen. (Lepidoptera: Noctuidae) em alfafa y soja. **Agricentia**, v.21, p.67-75, 2004.
- AVALOS, D.S.; MANGEAUD, A.; VALLADARES, G.R. Parasitism and food web structure in defoliating lepidoptera – parasitoid communities on soybean. **Neotropical Entomology**, v.45, p.712-717, 2016.
- AVANCI, M.R.F.; FOERSTER, L.A.; CAÑETE, C.L. Natural parasitism in eggs of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera, Noctuidae) by *Trichogramma* spp. (Hymenoptera, Trichogrammatidae) in Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.49, p.148-151, 2005.
- BARRIONUEVO, M.J.; MURÚA, M.G.; GOANE, L.; MEAGHER, R.; NAVARRO, F. Life table studies of *Rachiplusia nu* (Guenée) and *Chrysodeixis* (= *Pseudoplusia*) *includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) on artificial diet. **Florida Entomologist**, v.95, p.944-951, 2012.

BARTÓN, K. 2020. MuMIn: Multi-model inference. R package version 1.43.17. Disponível em: <<https://CRAN.R-project.org/package=MumIn>>.

BAUR, M.E.; BOETHEL, D.J. Effect of Bt-cotton expressing Cry1Ac(c) on the survival and fecundity of two hymenopteran parasitoids (Braconidae, Encyrtidae) in the laboratory. **Biological Control**, v.26, p.325-332, 2002.

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

BERNARDI, O.; SORGATTO, R.J.; BARBOSA, A.D.; DOMINGUES, F.A.; DOURADO, P.M.; CARVALHO, R.A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G.P.; OMOTO, C. Low susceptibility of *Spodoptera cosmioides*, *Spodoptera eridania* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to genetically-modified soybean expressing Cry1Ac protein. **Crop Protection**, v.58, p.33-40, 2014.

BERNAL, J.S. Genetically Modified Crops and Biological Control with Egg Parasitoids, p.443-465, in: CONSOLI, F.; PARRA, J.; ZUCCHI, R. Eds. **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on *Trichogramma***. Progress in biological control, Springer, Dordrecht, 2010.

BIANCHI, F.J.J.A.; BOOIJ, C.J.H.; TSCHARNTKE, T. Sustainable pest regulation in agricultural landscapes: a review on landscape composition, biodiversity and natural pest control. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v.273, p.1715-1727, 2006.

BLANCO, C.A.; CHARAVALLE, W.; DALLA-RIZZA, M.; FARIAS, J.R.; GARCÍA-DEGANO, M.F.; GASTAMINZA, G.; MOTA-SÁNCHEZ, D.; MURÚA, M.G.; OMOTO, C.; PIERALISI, B.K.; RODRÍGUEZ, J.; RODRÍGUEZ-MACIEL, J.C.; TERÁN-SANTOFIMIO, H.; TERÁN-VARGAS, A.P.; VALENCIA, S.J.; WILINK, E. Current situation of pests targeted by Bt crops in Latin America. **Current Opinion in Insect Science**, v.15, p.131-138, 2016.

BODENHEIMER, F.S. **Problems of animal ecology**. Oxford, University Press: Londres, 179p., 1938.

BORTOLOTTO, O.C.; SILVA, G.V.; BUENO, A.F.; POMARI, A.F.; MARTINELLI, S.; HEAD, G.P.; CARVALHO, R.A.; BARBOSA, G.C. Development and reproduction of *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) and its egg parasitoid *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) on the genetically modified soybean (Bt) MON 87701 x MON 89788. **Bulletin of Entomological Research**, v.104, p.724-730, 2014.

BORTOLOTTO, O.C.; POMARI, A.F.; BUENO, R.C.O.F.; BUENO, A.F.; KRUIZ, Y.K.S.; QUEIROZ, A.P.; SANZOVO, A.; FERREIRA, R.B. The use of soybean integrated pest management in Brazil: a review. **Agronomy Science and Biotechnology**, v.1, p.25-32, 2015.

BOURGUET, D.; CHAUFAX, J.; MICOUD, A.; DELOS, M.; NAIBO, B.; BOMBARDE, F.; MARQUE, G.; EYCHENNE, N.; PAGLIARI, C. *Ostrinia nubilalis* parasitismo and the field abundance of non-target insects in transgenic *Bacillus thuringiensis* corn (*Zea mays*). **Environmental Biosafety Research**, v.1; p.49-60, 2002.

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

BURNHAM, K.P.; ANDERSON, D.R. **Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach**. Springer, New York, 2002.

BUENO, R.C.O.F.; BUENO, A.F.; MOSCARDI, F.; PARRA, J.R.P. Lepidopteran larva consumption of soybean foliage: basis for developing multiple-species economic thresholds for pest management decisions. **Pest Management Science**, v.67, p.170-174, 2011.

BUENO, A.F.; SOSA-GÓMEZ, D.R.; CORRÊA-FERREORA, B.S.; MOSCARDI, F.; BUENO, R.C.O.F. **Inimigos naturais das pragas da soja**. p. 493-629. In: HOFFMANN-CAMPO, SPALDING CORRÊA-FERREIRA, MOSCARDI, Eds. Manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. Embrapa, 2012. 859 p.

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

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

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

CAÑETE, C.L.; FOERSTER, L.A. Incidência natural e biologia de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera, Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.47, p.201-204, 2003.

CARVALHO, G.S.; SILVA, L.B.; REIS, S.S.; VERAS, M.S.; CARNEIRO, E.; ALMEIDA, M.L.S.; SILVA, A.F.; LOPES, G.N. Biological parameters and termal requirements of *Trichogramma pretiosum* reared on *Helicoverpa armigera* eggs. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.52, p.961-968, 2017.

CATARINO, R.; CEDDIA, G.; AREAL, F.J.; PARK, J. The impact of secondary pests on *Bacillus thuringiensis* (Bt) crops. **Plant Biotechnology Journal**, v.13, p.601-612, 2015.

CHANDRASENA, D.I.; SIGNORINI, A.M.; ABRATTI, G.; STORER, N.P.; OLACIREGUI, M.L.; ALVES, A.P.; PILCHER, C.D. Characterization of field-evolved

resistance to *Bacillus thuringiensis*-derived Cry1F δ -endotoxin in *Spodoptera frugiperda* populations from Argentina. **Pest Management Science**, v.74, p.746-754, 2018.

CHANG, X.; LU, Z.; SHEN, Z.; PENG, Y.; YE, G. Bitrophic and tritrophic effects of transgenic cry1Ab/cry2Aj Maize on the beneficial, nontarget *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). **Environmental Entomology**, v.46, p.1171-1176, 2017.

CHEN, M.; ZHAO, J-Z.; COLLINS, H.L.; EARLE, E.D.; CAO, J.; SHELTON, A.M. A critical assessment of the effects of Bt transgenic plants on parasitoids. **Plos One**, v.3, e2284, 2008.

CIB. **Biotechnology Information Council. Economic and Socio-environmental Impacts of Insect Resistance Technology in Brazil: Historical Analysis, Perspectives and Future Challenges.** 2018. Disponível em: <<http://croplifebrasil.org/publicacoes/economic-and-socio-environmental-impacts-of-insect-resistance-technology-in-brazil/>> Acesso em: 15 Nov. 2020

CIOCIOLA-JÚNIOR, A.I.; QUERINO, R.B.; ZUCCHI, R.A.; STOUTHAMER, R. Molecular tool for identification of closely related species of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae): *T. rojasi* Nagaraja & Nagarkatti and *T. lasallei* Pinto. **Neotropical Entomology**, v.30, p.575-578, 2001.

COELHO, A.; STOUTHAMER, R.; PARRA, J.R.P. Flight propensity of isofemale lines of *Trichogramma pretiosum* Riley in two relative humidity levels. **Florida Entomologist**, v.101, p.364-368, 2018.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira grãos. Décimo segundo levantamento safra 2019/20.** Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos/item/download/33275_6780e71910d3f0d489c5f171231b65cd> Acesso em: 07 de Nov. 2020.

CÔNSOLI, F.L.; PARRA, J.R.P. Effects of constant and alternating temperatures on *Trichogramma galloi* Zucchi (Hym., Trichogrammatidae) biology II.- parasitism capacity and longevity. **Journal of Applied Entomology**, v.9, p.667-670, 1995.

CONTE, O.; OLIVEIRA, F.T.; HARGER, N.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; ROGGIA, S.; PRANDO, A.M.; POSSAMAI, E.J.; REIS, E.A.; MARX, E.F. **Resultados do manejo integrado de pragas da soja na safra 2018/19 no Paraná.** Documentos 416, Embrapa Soja, Londrina, 63p., 2019.

CORRÊA, B.S.; PANIZZI, A.R.; NEWMAN, G.G.; TURNIPSEED, S.G. Distribuição geográfica e abundância estacional dos principais insetos-pragas da soja e seus predadores. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.6, p. 40-50, 1977.

CTNBio. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. **Liberação Comercial de Soja Geneticamente Modificada Resistente a Insetos e Tolerante a Herbicida, Soja MON 87701 x MON 89788.** Parecer técnico nº2542/2010. Brasília, 2010.

CZEPAK, C.; ALBERNAZ, K.C.; VIVAN, L.M.; GUIMARÃES, H.O.; CARVALHAIS, T. Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.43, p.110-113, 2013.

DEQUECH, S.T.B.; CAMERA, C.; STURZA, V.S.; RIBEIRO, L.P.; QUERINO, R.B.; PONCIO, S. Population fluctuation of *Spodoptera frugiperda* eggs and natural parasitism by *Trichogramma* in maize. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.35, p.295-300, 2013.

De BORTOLI, S.A.; VACARI, A.M.; POLANCZYK, R.A.; VEIGA, A.C.P.; GOULART, R.M. **Effect of *Bacillus thuringiensis* on parasitoids and predators**. In: *Bacillus thuringiensis* and *Lysinibacillus sphaericus*: Characterization and use in the field of biocontrol. FIUZA, L.M.; POLANCZYK, R.A.; CRICKMORE, N. (Eds). Springer, Switzerland, p.67-78, 2017.

DIVELY, G.P. Impact of transgenic VIP3A x Cry1Ab lepidopteran-resistant field corn on the nontarget arthropod community. **Environmental Entomology**, v.34, p.1267-1291, 2005.

DOURADO, P.M.; BACALHAU, F.B.; AMADO, D.; CARVALHO, R.A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G.P.; OMOTO, C. High susceptibility to cry1Ac and low resistance allele frequency reduce the risk of resistance of *Helicoverpa armigera* to Bt soybean in Brazil. **Plos One**, doi:10.1371/journal.pone.0161388, 2016.

DUDCZAK, A.; QUERINO, R.B.; FOERSTER, M.R.; FOERSTER, L.A. First occurrence of *Trichogramma bruni* Nagaraja (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitizing eggs of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Erebidae) in Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 46, p.471-472, 2017.

DURIGAN, M.R.; CORRÊA, A.S.; PEREIRA, R.M.; LEITE, N.A.; AMADO, D.; SOUSA, D.R.; OMOTO, C. High frequency of CYP337B3 gene associated with control failures of *Helicoverpa armigera* with pyrethroid insecticides in Brazil. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.143, p. 73-80, 2017.

FARIA, M.F.; LUNDFREN, J.G.; FONTES, E.M.G.; FERNANDES, O.A.; SCHMIDT, F.; NGUYEN VAN TUAT; ANDOW, D.A. **Assessing the effects of Bt cotton on generalista arthropod predators**. In: HILBECK, A.; ANDOW, D.A.; FONTES, E.M.G. (Ed.) Environmental risk assessment of genetically modified organisms: methodologies for assessing Bt cotton in Brazil. Wallingford: CABI publishing, v.2, p.175-199, 2006.

FARIAS, J.R.; ANDOW, D.A.; HORIKOSHI, R.J.; SORGATTO, R.J.; FRESIA, P.; SANTOS, A.C.; OMOTO, C. Field-evolved resistance to Cry1F maize by *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Crop Protection**, v.64, p.150-158, 2014.

FELSENSTEIN, J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. **Evolution**, v.39, p.783-791, 1985.

FIGUEIREDO, M.L.C.; CRUZ, I.; SILVA, R.B.; FOSTER, E. (2015) Biological control with *Trichogramma pretiosum* increases organic maize productivity by 19.4%. **Agronomy for Sustainable Development**, v.25, p.1175–1183, 2015.

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

FOERSTER, M.R.; FOERSTER, L.A. Effects of temperature on the immature development and emergence of five species of *Trichogramma*. **BioControl**, v.54, p.445-450, 2009.

FOERSTER, M.R.; MARCHIORO, C.A.; FOERSTER, L.A. Temperature-dependent parasitism, survival, and longevity of five species of *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) associated with *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, v.43, p.176-182, 2014.

FOERSTER, M.R.; MARCHIORO, C.A.; FOERSTER, L.A. How *Trichogramma* survives during soybean offseason in southern Brazil and the implications for its success as a biocontrol agent. **BioControl**, v.60, p.1-11, 2015.

FORMENTINI, A.C.; SOSA-GÓMEZ, D.R.; PAULA-MORAES, S.V.; BARROS, N.M.; SPECHT, A. Lepidópteros (Insecta) associados à cultura da soja na Argentina, Brasil, Chile e Uruguai. **Ciência Rural**, v.45, p.2113-2120, 2015.

FOX, J.; WEISBERG, S. **An R companion to applied regression**. Sage, Thousand Oaks, CA, 3 edição, 608p. 2018.

FREITAS, J.G.; TAKAHASHI, T.A.; FIGUEIREDO, L.L.; FERNANDES, P.M.; CAMARGO, L.F.; WATANABE, I.M.; FOERSTER, L.A.; FERNANDEZ-TRIANA, J.; SHIMBORI, E.M. First record of *Cotesia scotti* (Valerio and Whitfield, 2009) (Hymenoptera: Braconidae: Microgastrinae) comb. nov. parasitising *Spodoptera cosmioides* (Walk, 1858) and *Spodoptera eridania* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 63, p.238-244, 2019.

FRIZZAS, M.R.; OLIVEIRA, C.M.; OMOTO, C. Diversity of insects under the effect of Bt maize and insecticides. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.84, p.1-8, e0062015, 2017.

GARRO, L.S.; SHIMBORI, E.M.; PENTEADO-DIAS, A.M.; SHAW, S.R. Four new species of *Aleiodes* (Hymenoptera: Braconidae: Rogadinae) from the Neotropical Region. **The Canadian Entomologist**, v.149, p.1-14, 2017.

GAZZONI, D.L. **Perspectivas do manejo de pragas**. p. 789 – 829. In: HOFFMANN-CAMPO, SPALDING CORRÊA-FERREIRA, MOSCARDI, Eds. Manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. Embrapa, 2012. 859 p.

GROOT, A.T.; DICKE, M. Insect-resistant transgenic plants in a multi-trophic context. **The Plant Journal**, v.31, p.387-406, 2002.

HAMMER, Ø.; HARPER, D.A.T.; RYAN, P.D. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia Electronica**, v.4, 9pp., 2001.

HARBA, M.; IDRIS, I. The effect of host density and viability on superparasitism behavior of *Trichogramma cacoeciae* and *T. principium* females. **Agriculture, Forestry and Fisheries**, v.7, p.11-18, 2018.

HARTING, F. DHARMA: residual diagnostics for hierarchical (multi-level-mixed) regression models. R. package, version 0.3.3.0. 2020. Disponível em: <<http://florianhartig.github.io/DHARMA/>>.

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

HASSAN, S.A. **Strategies to select *Trichogramma* species for use in biological control**. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S.A. (Ed), Biological control with egg parasitoids. Wallingford: Cab International, p.55-73, 1994.

HEINZ, K.M. Host size-dependent sex allocation behaviour in a parasitoid: implications for *Catolaccus grandis* (Hymenoptera: Pteromalidae) mass rearing programmes. **Bulletin of Entomological Research**, v.88, p.37-45, 1998.

HENRY, R.S.; JOHNSON, W.G.; WISE, K.A. The impact of a fungicide and an insecticide on soybean growth, yield, and profitability. **Crop Protection**, v.30, p.1629-1634, 2011.

HERVE, M. RVAideMemoire: Testing and plotting procedures for biostatistics. R package version 0.9-78. <https://CRAN.R-project.org/package=RVAideMemoire>.

HOFFMANN-CAMPO, C.B.; MOSCARDI, F.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; OLIVEIRA, L.J.; SOSA-GÓMEZ, D.R.; PANIZZI, A.R.; CORSO, I.C.; GAZZONI, D.L.; OLIVEIRA, E.B. **Pragas de soja no Brasil e seu manejo integrado**. Londrina: Embrapa Soja, 2000, 70 p.

HOTHORN, T.; BRETZ, F.; WESTFALL, P. Simultaneous inference in general parametric models. B Simultaneous inference in general parametric models. **Biometrical Journal**, v.50, p.346–363, 2008.

HUSSAIN, D.; SALEEM, M.; GHOUSE, G.; ABBAS, M. Insecticide resistance in field populations of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Entomological Science**, 50, p.119–128, 2015.

JACKMAN, S. pscl: Classes and Methods for R Developed in the Political Science Computational Laboratory, Stanford University. Department of Political Science, Stanford University, Stanford, California. R package version 0.95, 2008, Disponível em: <<http://CRAN.R-project.org/package=pscl>>.

JIAO, Y.; HU, X.; PENG, Y.; WU, K.; ROMEIS, J.; LI, Y. Bt rice plants may protect neighbouring non-Bt rice plants against the striped stem borer, *Chilo suppressalis*. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 285, doi: 10.1098/rspb.2018.1283, 2018.

JUSTINIANO, W.; FERNANDES, M.G.; VIANA, C.L.T.P. Diversity, composition and population dynamics of arthropods in the genetically modified soybeans Roundup Ready® RR1 (GT 40-3-2) and Intacta RR2 PRO® (MON87701 x MON89788). **Journal of Agricultural Science**, v.6, p.33-44, 2014.

KENIS, M.; du PLESSIS, H.; VAN DEN BERG, J.; BA, M.N.; GOERGEN, G.; KWADJO, K.E.; BAOUA, I.; TEFERA, T.; BUDDIE, A.; CAFÀ, G.; OFFORD, L.; RWOMUSHANA, I.; POLASZEK, A. *Telenomus remus*, a candidate parasitoid for the biological control of *Spodoptera frugiperda* in Africa, is already present on the continent. **Insects**, 10:92, doi: 10.3390/insects10040092, 2019.

KINDT, R.; COE, R. Tree diversity analysis. **A manual and software for common statistical methods for common statistical methods for ecological and biodiversity studies**. Nairobi: World agroforestry centre, 196p., 2005.

KLÜMPER, W.; QAIM, M. A meta-analysis of the impacts of of genetically modified crops. **Plos One** v.9, e111629, doi: 10.1371/journal.pone.0111629, 2014.

KOGAN, M. Integrated pest management: historical perspectives and contemporary developments. **Annual Review of Entomology**, v.43, p.243-270, 1998.

KOS, M., van LOON, J.J.A., DICKE, M., VET, L.E.M. Transgenic plants as vital components of integrated pest management. **Trends in Biotechnology**, v.27, p.621-627, 2009.

KOTTEK, M.; GRIESER, J.; BECK, C.; RUDOLF, B.; RUBEL, F. World Map of the Köppen-Geiger climate classification updated. **Meteorologische Zeitschrift**, v.15, p.259-263, 2006.

KUMAR, S.; STECHER, G.; LI, M.; KNYAZ, C.; TAMURA, K. Mega X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. **Molecular Biology and Evolution**, 35:1547-1549, 2018.

KUTUK, H. Identification and natural parasitism of *Trichogramma* Species on *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) eggs in Düzce, Turkey. **Entomological News**, v.126, p.290-298, 2017.

LAURENTIS, V.L.; RAMALHO, D.G.; SANTOS, N.A.; CARVALHO, V.F.P.; VACARI, A.M.; DE BORTOLI, S.A.; VENEZIANI, R.C.S.; INÁCIO, G.C.; DAMI, B.G. Performance of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on eggs of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Scientific Reports**, 9:1156, 2019.

LEITE, N.A.; ALVES-PEREIRA, A.; CORRÊA, A.S.; ZUCCHI, M.I.; OMOTO, C. Demographics and genetic variability of the new world bollworm (*Helicoverpa zea*) and the old world bollworm (*Helicoverpa armigera*) in Brazil. **Plos One**, v.9, 10.1371/journal.pone.0113286, 2014.

LEITE, N.A.; REDAELLI, L.R.; SANT'ANNA, J. Fitness, acceptance and olfactory responses of *Trichogramma pretiosum* on eggs of *Spodoptera frugiperda* fed with Cry1Ac soybean. **Bulletin of Insectology**, v.73, p.217-224, 2020.

LENTH, R.V. Emmeans: estimated marginal means, aka Least-Squares Means. R package version 1.5.3. 2020. Disponível em: <<https://CRAN.R-project.org/package=emmeans>>

LIU, X.; ZHANG, Q.; ZHAO, J.Z.; CAI, Q.; XU, H.; LI, J. Effects of the Cry1Ac toxin of *Bacillus thuringiensis* on *Microplitis mediator*, a parasitoid of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.144, p.205-213, 2005.

LIU, X.; CHEN, M.; COLLINS, H.L.; ONSTAD, D.W.; ROUSH, R.T.; ZHANG, Q.; EARLE, E.D.; SHELTON, A.M. Natural enemies delay insect resistance to Bt crops. **Plos One**, v.9, e90366, doi:10.1371/journal.pone.0090366, 2014.

LIU, B.; YANG, L.; YANG, F.; WANG, Q.; YANG, Y.; LU, Y.; GARDINER, M.M. Landscape diversity enhances parasitism of cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*) eggs by *Trichogramma chilonis* in cotton. **Biological Control**, v.93, p.15-23, 2016.

LÖVEI, G.L.; ANDOW, D.A.; ARPAIA, S. Transgenic insecticidal crops and natural enemies: a detailed review of laboratory studies. **Environmental Entomology**, v.38, p.293–306, 2009.

LU, Y.; WU, K.; JIANG, Y.; GUO, Y.; DESNEUX, N. Widespread adoption of Bt cotton and insecticide decrease promotes biocontrol services. **Nature**, 487, p. 362–365, 2012.

LU, Z.B.; TIAN, J.C.; HAN, N.S.; HU, C.; PENG, Y.F.; STANLEY, D.; YE, G.Y. No direct effects of two transgenic Bt rice lines, T1C-19 and T2A-1, on the arthropod communities. **Environmental Entomology**, v.43, p.1453-1463, 2014.

LU, Z.; DANG, C.; HAN, N.; SHEN, Z.; PENG, Y.; STANLEY, D.; YE, G. The new transgenic cry1Ab/vip3H rice poses no unexpected ecological risks to arthropod communities in rice agroecosystems. **Environmental Entomology**, p.1-8, doi: 10.1093/ee/nvv215, 2015.

LUNDGREN, J.G.; GASSMANN, A.J.; BERNAL, J.; DUAN, J.J.; RUBERSON, J. Ecological compatibility of GM crops and biological control. **Crop Protection**, v.28, p.1017-1030, 2009.

LUTTRELL, R.G.; WAN, L.; KNIGHTEN, K. Variation in susceptibility of noctuid (Lepidoptera) larvae attacking cotton and soybean to purified endotoxin proteins and commercial formulations of *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Economic Entomology**, v.92, p21-32, 1999.

LUZ, P.M.C.; SPECHT, A.; PAULA-MORAES, S.V.; MALAQUIAS, J.V.; FERREIRA, L.F.M.; OTANÁSIO, P.N.; DINIZ, I.R. Owllet moth (Lepidoptera: Noctuoidea) associated with Bt and non-Bt soybean in the Brazilian savanna. **Brazilian Journal of Biology**, v.79, p.248-256, 2019.

MACHADO, E.P.; RODRIGUES JUNIOR, G.L.S.; FÜHR, F.M.; ZAGO, S.L.; MARQUES, L.H.; SANTOS, A.C.; NOWATZKI, T.; DAHMER, M.L.; OMOTO, C.; BERNARDI, O. Cross-crop resistance of *Spodoptera frugiperda* selected on Bt maize to genetically-modified soybean expressing Cry1Ac and Cry1F proteins in Brazil. **Scientific Reports**, v.10. 10080, doi:10.1038/s41598-020-67339-1, 2020.

MARCHIORO, C.A.; FOERSTER, L.A. Performance of the wheat armyworm, *Pseudaletia sequax* Franclemont, on natural and artificial diets. **Neotropical Entomology**, v.41, p.288-295, 2012.

MARCHIORO, C.A.; KRECHEMER, F.S.; FOERSTER, L.A. Assessing the total mortality caused by two species of *Trichogramma* on its natural host *Plutella xylostella* (L.) at different temperatures. **Neotropical Entomology**, 44:270-277, 2015.

MARQUES, L.H.; SANTOS, A.C.; CASTRO, B.A.; STORER, N.P.; BABCOCK, J.M.; LEPPING, M.D.; SA, V.; MOSCARDINI, V.F.; RULE, D.M.; FERNANDES, O.A. Impacto f transgenic soybean expresssing Cry1Ac and Cry1F proteins on the non-target arthropod community associated with soybean in Brazil. **Plos One**, v.13, doi: 10.1371/journal.pone.0191567, 2018.

MASSAROLLI, A.; HOFFMANN, A.R.L.; FAVETTI, B.M.; BUTNARIU, A.R. Ichneumonids (Hymenoptera) and Tachinid flies (Diptera) associated to lepidopterans in soybean crops. **Journal of Agricultural Science**, v.10, p. 167-173, 2018.

MASSAROLLI, A.; HOFFMANN, A.R.L.; FAVETTI, B.M.; BUTNARIU, A.R. Ichneumonids (Hymenoptera) and Tachinid flies (Diptera) associated to lepidopterans in soybean crops. **Journal of Agricultural Science**, v.10, p. 167-173, 2018.

MEDINA, R.F.; BARBOSA, P. The role of host plant species in the phenotypic differentiation of sympatric populations on *Aleiodes nolophanae* and *Cotesia marginiventris*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.128, p.14-26, 2008.

MONNERAT, R.; MARTINS, E.; MACEDO, C.; QUEIROZ, P.; PRAÇA, L.; SOARES, C.M.; MOREIRA, H.; GRISI, I.; SILVA, J.; SOBERON, M.; BRAVO, A. Evidence of field-evolved resistance of *Spodoptera frugiperda* to Bt corn expressing Cry1F in Brazil that is still sensitive to modified Bt toxins. **Plos One**, doi: /10.1371/journal.pone.0119544, 2015.

MORAES, R.R.; LOECK, A.E.; BELARMINO, L.C. Flutuação populacional de Plusiinae e *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) em soja no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.26, p.51-56, 1991.

MORAES, R.R.; LOECK, A.E.; BELARMINO, L.C. Inimigos naturais de *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) e de *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae) em soja no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.26, p.57-64, 1991.

MORAES, M.C.B.; LAUMANN, R.A.; AQUINO, M.F.S.; PAULA, D.P.; BORGES, M. Effect of Bt genetic engineering on indirect defense in cotton via a tritrophic interaction. **Transgenic Research**, v.20, p.99-107, 2011.

MOSCARDI, F. Assessment of the application of baculoviruses for control of lepidoptera. **Annual Review of Entomology**, v.44, p. 257-289, 1999.

MOSCARDI, F.; SOUZA, M. L. de; CASTRO, M. E. B. de; MOSCARDI, M. L.; SZEWCZYK, B. **Baculovirus pesticides: present state and future perspectives**. In: AHMAD, L.; AHMAD, F.; PICHTEL, J. (Ed.). *Microbes and microbial technology agricultural and environmental applications*. London: Springer, 2011. p. 415-445.

MOSCARDI, F.; BUENO, A.F.; SOSA-GÓMEZ, D.R.; ROGGIA, S.; HOFFMANN-CAMPO, C.B.; POMARI, A.F.; CORSO, I.C.; YANO, S.A.C. Artrópodes que atacam as folhas da soja, p. 213-334, in: HOFFMANN-CAMPO, SPALDING CORRÊA-FERREIRA, MOSCARDI, Eds. **Manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Embrapa, 2012. 859 p.

NARANJO, S.E. Impacts of Bt crops on non-target invertebrates and insecticide use patterns. **CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**, v.4, 2009.

NARANJO-GUEVARA, N.; SANTOS, L.A.O.; BARBOSA, N.C.C.P.; CORRÊA e CASTRO, A.C.M.; FERNANDES, O.A. Long-term mass rearing impacts performance of the egg parasitoid *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae). **Journal of Entomological Science**, v.55, p.69-86, 2018.

NASCIMENTO, P.T.; VON PINHO, R.G.; FADINI, M.A.M.; SOUZA, C.S.F.; VALICENTE, F.H. Does singular and stacked corn affect choice behavior for oviposition and feed in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)? **Neotropical Entomology**, v.49, p.302-310, 2020.

NOYES, J.S. Universal Chalcidoidea Database. World Wide Web electronic publication. 2019. <http://www.nhm.ac.uk/chalcidoids> Accessed 14 Nov 2020

ODE, P.J.; HARDY, I.C.W. Parasitoid sex ratios and biological control. In: WAJNBERG, E.; BERNSTEIN, C; van ALPHEN, J. **Behavioral ecology of insect parasitoids: from theoretical approaches to field applications**. Wiley, Blackwell, 2007, 253-291p.

OERKE, E.C.; DEHNE, H.Q. Safeguarding production – losses in major crops and the role of crop protection. **Crop Protection**, v.23, p.275-285, 2004.

OLIVEIRA, C.M.; AUAD, A.M.; MENDES, S.M.; FRIZZAS, M.R. Crop losses and the economic impact of insect pest on Brazilian agriculture. **Crop Protection**, v.56, p.50-54, 2014.

OMOTO, C.; BERNARDI, O.; SALMERON, E.; SORGATTO, R.J.; DOURADO, P.M.; CRIVELLARI, A.; CARVALHO, R.A.; WILSE, A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G.P. Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. **Pest Management Science**, v.79, p. 1727-1736, 2016.

PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. Controle Biológico: terminologia. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-

FERREIRA, B.S.; BENTO, J. M. S. (Ed.). (**Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo, Manole, 2002, p.1-16.

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

PARRA, J.R.P.; COELHO JUNIOR, A. Applied biological control in Brazil: from laboratory assays to field application. **Journal of Insect Science**, v.19, p.1-6, 2019.

PATEL, P.N.; HABIB, M.E.M. Development of *Microcharops anticarsiae* Gupta (Hym., Ichneuonidae), an endoparasitoid of the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis* (Lep., Noctuidae) and morphology of its immature stages. **Journal of Applied Entomology**, v.122, p.369-373, 1998.

PAULA, D.P.; ANDOW, D.A. Uptake and bioaccumulation of Cry toxins and aphidophagous predator. **Environmental Pollution**, v.209, p.164-168, 2016.

PEREIRA, F.F.; BARROS, R.; PRATISSOLI, D. Desempenho de *Trichogramma pretiosum* Riley e *T. exiguum* Pinto & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) submetidos a diferentes densidades de ovos de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Ciência Rural**, v.3, p.1669–1674, 2004.

PINTO, J.D. Systematics of the North American species of *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Memoirs of the Entomological Society of Washington**, v. 22, p. 1–287, 1999.

PINTO, A.S.; BUENO, R.C.O.F. **Soybean**. In: SOUZA, B.; VÁZQUEZ, L.L.; MARUCCI, R.C. (Ed). Natural enemies of insect pests in neotropical agroecosystems. Springer, Switzerland, 2019, p.397-412.

PIOVESAN, M.; SPECHT, A.; CARNEIRO, E.; PAULA-MORAES, S.V.; CASAGRANDE, M.M. Phenological patterns of *Spodoptera* Guenée, 1852 (Lepidoptera: Noctuidae) is more affected by ENSO than seasonal factors and host plant availability in a brazilian savanna. **International Journal of Biometeorology**, v.62, p.413-422, 2018.

PIOVESAN, M.; CARNEIRO, E.; SPECHT, A.; CASAGRANDE, M.M. Where and when? How phenological patterns of armyworm moths (Lepidoptera: Noctuidae) change along a latitudinal gradient in Brazil. **Bulletin of Entomological Research**, v.109, p.490-499, 2019.

POLASZEK, A.; FOERSTER, L.A. *Telenomus cyamophylax*, n. sp. (Hymenoptera: Scelionidae) attacking eggs of the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.26, p.177–181, 1997.

POMARI, A.F.; BUENO, A.F.; BUENO, R.C.O.F.; MENEZES JUNIOR, A.O. Biological characteristics and termal requirements of the biological control agent *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygastriidae) reared on eggs of different species of

the genus *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v.105, p.73-81, 2012.

POMARI, A.F.; BUENO, A.F.; BUENO, R.C.O.F.; MENEZES JUNIOR, A.O. *Telenomus remus* Nixon egg parasitization of three species of *Spodoptera* under different temperatures. **Neotropical Entomology**, v.42, p.399-406, 2013.

POZEBON, H.; MARQUES, R.P.; PADILHA, G.; O'NEAL, M.; VALMORBIDA, I.; BEVILAQUA, J.G.; TEK TAY, W.; ARNEMANN, J.A. Arthropod invasions versus soybean production in Brazil: a review. **Journal of Economic Entomology**, v.113, p.1591-1608, 2020.

QUERINO, R.B.; ZUCCHI, R.A. Intraspecific variation in *Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) associated with different hosts. **Brazilian Journal of Biology**, v.64, p.665-679, 2002.

QUERINO, R.B.; ZUCCHI, R.A. Caracterização morfológica de dez espécies de *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) registradas na América do Sul. **Neotropical Entomology**, 32:597-613, 2003.

QUERINO, R.B.; ZUCCHI, R.A. Six new species of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) from a Brazilian forest reserve. **Zootaxa**, v.134, p.1-11, 2003.

QUERINO, R.B.; ZUCCHI, R.A. **Guia de identificação de Trichogramma para o Brasil**. Brasília, DF: Embrapa, 103p., 2012.

QUERINO, R.B.; SILVA, N.N.P.; ZUCCHI, R.A. Natural parasitism by *Trichogramma* spp. in agroecosystems of the mid-north, Brazil. **Ciência Rural**, v.46, p.1521-1523, 2016.

QUERINO, R.B.; MENDES, J.V.; COSTA, V.A.; ZUCCHI, R.A. New species, notes and new records of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in Brazil. **Zootaxa**, v.4232, p.137-143, 2017.

QUERINO, R.B.; ZUCCHI, R.A. Annotated checklist and illustrated key to the species of *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) from South America. **Zootaxa**, v.4656, p.201-231, 2019.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>, 2019.

RAMIREZ-ROMERO, R.; BERNAL, J.S.; CHAUFAX, J.; KAISER, L. Impact assessment of Bt-maize on a moth parasitoid, *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae), via host exposure to purified Cry lab protein or Bt-plants. **Crop Protection**, v.26, p.953-962, 2007.

RAZINGER, J.; VASILEIADIS, V.P.; GIRAUD, M.; VAN DIJK, W.; SATTIN, M.; UREK, G. On-farm evaluation of inundative biological control of *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae) by *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in three European maize-producing regions. **Pest Management Science**, v.72, p.246-254, 2016.

RESENDE, D.C.; MENDES, S.M.; MARUCCI, R.C.; SILVA, A.C.; CAMPANHA, M.M.; WAQUIL, J.M. Does Bt maize cultivation affect the non-target insect community in the agro ecosystem? **Revista Brasileira de Entomologia**, v.60, p.82-93, 2016.

RITCHIE, S.; HANWAY, J.J.; THOMPSON, H.E. **How a soybean plant develops**. Ames: Iowa State University of Science and Technology: Cooperative extension. 20p., 1985.

ROLIM, A.A.S.G.; YANO, S.A.C.; SPECHT, A.; ANDRADE, C.G.T.J.; SOSA-GÓMEZ, D.R. Morphological and molecular characterization of the eggs of some noctuid species associated with soybean in Brazil. **Annals of the Entomological Society of America**, v.106, p.643-651, 2013.

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**, v.6, p.215-236, 2005.

ROMEIS, J.; MEISSLE, M.; BIGLER, F. Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. **Nature Biotechnology**, v.24, p. 63-71, 2006.

ROMEIS, J.; BARTSCH, D.; BIGLER, F.; CANDOLFI, M.P.; GIELKENS, M.M.C.; HARTLEY, S.E.; HELLMICH, R.L.; HUESING, J.E.; JEPSON, P.S.; LAYTON, R.; QUEMADA, H.; RAYBOULD, A.; ROSE, R.I.; SCHIEMANN, J.; SEARS, M.K.; SHELTON, A.M.; SWEET, J.; VAITUZIS, Z.; WOLT, J.D. Assessment of risk of insect-resistant transgenic crops to nontarget arthropods. **Nature Biotechnology**, v.26, p. 203-208, 2008.

ROMEIS, J.; HELLMICH, R.L.; CANDOLFI, M.P.; CARSTENS, K.; De SCHRIJVER, A.; GATEHOUSE, A.M.R.; HERMAN, R.A.; HUESING, J.E.; McLEAN, M.A.; RAYBOULD, A.; SHELTON, A.M.; WAGGONER, A. Recommendations for the design of laboratory studies on non-target arthropods for risk assessment of genetically engineered plants. **Transgenic Research**, v.20. p.1-22, 2011.

ROMEIS, J.; McLEAN, M.A.; SHELTON, A.M. When bad science makes good headlines: the case of Bt maize and regulatory bans. **Nature Biotechnology**, v.31, p. 386-387, 2013.

ROMEIS, J.; NARANJO, S.E.; MEISSLE, M.; SHELTON, A.M. Genetically engineered crops help support conservation biological control. **Biological Control**, v.130, p.136-154, 2019.

RORIZ, V.; OLIVEIRA, L.; GARCIA, P. Host suitability and preference studies of *Trichogramma cordubensis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Biological Control**, v.36, p.331–336, 2006.

SANTOS, S.R.; SPECHT, A.; CARNEIRO, E.; PAULA-MORAES, S.V.; CASAGRANDE, M.M. Interseasonal variation of *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae) populations in the Brazilian savanna. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.61, p.294-299, 2017.

SCHULER, T.H.; DENHOLM, I.; CLARK, S.J.; STEWART, C.N.; POPPY, G.M. Effects of Bt plants on the development and survival of the parasitoid *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae) in susceptible and Bt-resistant larvae of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Journal of Insect Physiology**, v.50, p.435-443, 2004.

SHAW, S.R.; SHIMBORI, E.M.; PENTEADO-DIAS, A.M. A revision of the *Aleiodes bakeri* (Brues) species subgroup of the *A. seriatus* species group with the description of 18 new species from the Neotropical Region. **ZooKeys**, v.964, p.41-107, 2020.

SHAW, S.R.; MARSH, P.M.; TALLUTO, M.A. Revision of North American *Aleiodes* (Part 9): the pallidator (Thunberg) species-group with description of two new species (Hymenoptera: Braconidae, Rogadinae). **Zootaxa**, v.3608, p.204-214, 2013.

SHELTON, A.M.; ZHAO, J.Z.; ROUSH, R.T. Economic, ecological, food safety, and social consequences of the deployment of Bt transgenic plants. **Annual Review of Entomology**, v.47, p.845-881, 2002.

SHELTON, A.M.; NARANJO, S.R.; ROMEIS, J.; HELLMICH, R.L.; WOLT, J.D.; FEDERICI, B.A.; ALBAJES, R.; BIGLER, F.; BURGESS, E.P.J.; DIVELY, G.P.; GATEHOUSE, A.M.R.; MALONE, L.A.; ROUSH, R.; SEARS, M.; SEHNAL, F.; FERRY, N.; BELL, H.A. Appropriate analytical methods are necessary to assess nontarget effects of insecticidal proteins in GM crops through meta-analysis (Response to Andow et al. 2009). **Environmental Entomology**, v.38, p.1533-1538, 2009.

SHEPARD, M.; CARNER, G.R.; TURNISPEED, S.G. A comparison of three sampling methods for arthropods in soybeans. **Environmental Entomology**, v.3, p.227-232, 1974.

SHIMBORI, E.M.; SHAW, S.R. Twenty-four new species of *Aleiodes* Wesmael from the eastern Andes of Ecuador with associated biological information (Hymenoptera, Braconidae, Rogadinae). **Zookeys**, v.7402, p.1-81, 2014.

SHOEB, M.A.; EL-HENEIDY, A.H. Incidence of superparasitism in relation to some biological aspects of the egg parasitoid, *Trichogramma evanescens* west. (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v.20, p. 61-66, 2010.

SIMONATO, J.; GRIGOLLI, J.F.J.; OLIVEIRA, H.N. **Controle biológico de insetos-praga na soja**. In: LOURENÇÃO, A. L. F.; GRIGOLLI, J. F. J.; MELOTTO, A. M.; PITOL, C.; GITTI, D. de C.; ROSCOE, R. (Ed.). Tecnologia e produção: Soja 2013/2014. Maracaju, MS: Fundação MS, 2014.

SILVA, M.T.B. Controle da lagarta da soja (*Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 – Lepidoptera: Noctuidae). IV. Controle Biológico Natural*. **Ciência Rural**, v.23, p.127-132, 1993.

SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; VILLA NOVA, N.A. **Manual de ecologia dos insetos**. Piracicaba: Ceres, 419p., 1976.

SMITH, S.M. Biological control with *Trichogramma*: Advances, successes and potential of their use. **Annual Review of Entomology**, v.41, p.375-406, 1996.

SOSA-GÓMEZ, D.R.; DELPIN, K.E.; MOSCARDI, F.; NOZAKI, M.H. The impact of fungicides on *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson epizootics and on populations of *Anticarsia gemmatilis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), on soybean. **Neotropical Entomology**, v.32, p.287-291, 2003.

SOSA-GÓMEZ, D.R.; OMOTO, C. **Resistência a inseticidas e outros agentes de controle em artrópodes associados à cultura da soja**. In: HOFFMANN-CAMPO, SPALDING CORRÊA-FERREIRA, MOSCARDI, Eds. Manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. Embrapa, 2012, p. 673-723.

SOSA-GÓMEZ, D.R.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; HOFFMANN-CAMPO, C.B.; CORSO, I.C.; OLIVEIRA, L.J.; MOSCARDI, F.; PANIZZI, A.R.; BUENO, A.F. HIROSE, E.; ROGGIA, S. **Manual de identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja**. Documentos 269, Embrapa Soja, Londrina, 2014.

SOUZA, A.R.; GIUSTOLIN, T.A.; QUERINO, R.B.; ALVARENGA, C.D. Natural parasitism of lepidopteran eggs by *Trichogramma* species (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in agricultural crops in Minas Gerais, Brazil. **Florida Entomologist**, v.99, p.221-225, 2016.

SPECHT, A.; SOSA-GÓMEZ, D.R.; PAULA-MORAES, S.V.; YANO, S.A.C. Identificação morfológica e molecular de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) e ampliação de seu registro de ocorrência no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.48, p.689-692, 2013.

TABONE, E.; BARDON, C.; DESNEUX, N.; WAJNBERG, E. Parasitism of different *Trichogramma* species and strains on *Plutella xylostella* L. on greenhouse cauliflower. **Journal of Pest Science**, v. 83, p.251-256, 2010.

TABASHNIK, B.E.; GASSMANN, A.J.; CROWDER D.W.; CARRIÈRE, Y. Insect resistance to Bt crops: evidence versus theory. **Nature Biotechnology**, v. 26, p.199-202, doi: 10.1038/nbt1382, 2008.

TABASHNIK, B.E.; BRÉVAULT, T.; CARRIÈRE, Y. Insect resistance to Bt crops: lessons from the first billion acres. **Nature Biotechnology**, v.31, p.510-521, 2013.

TAKAHASHI, T.A.; NISHIMURA, G.; CARNEIRO, E.; FOERSTER, L.A. First record of *Peridroma saucia* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) in transgenic soybeans. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.63, p.199-201, 2019.

TAMURA, K.; NEI, M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. **Molecular Biology and Evolution**, v. 10, p.512-526, 1993.

TANG, R.; BABENDREIER, D.; ZHANG, F; KANG, M.; SONG, K.; HOU, M-L. Assessment of *Trichogramma japonicum* and *T. chilonis* as potential biological control agents of yellow stem borer in rice. **Insects**, doi: 10.3390/insects8010019, 2017.

TÉLLEZ-RODRÍGUEZ, P.; RAYMOND, B.; MÓRAN-BERTOT, I.; RODRÍGUEZ-CABRERA, L.; WRIGHT, D.J.; BORROTO, C.G.; AYRA-PARDO, C. Strong oviposition preference for Bt over non-Bt maize in *Spodoptera frugiperda* and its implications for the evolution of resistance. **BMC Biology**, v.12, doi: 10.1186/1741-7007-12-48, 2014.

TIAN, J-C.; WANG, X-P.; LONG, L-P.; ROMEIS, J.; NARANJO, S.E.; HELLMICH, R.L.; SHELTON, A.M. Eliminating host-mediated effects demonstrates Bt maize producing Cry1F has no adverse effects on the parasitoid *Cotesia marginiventris*. **Transgenic Research**, v.23, p.257-264, 2013.

TIAN, J-C.; WANG, X-P.; CHEN, Y.; ROMEIS, J.; NARANJO, S.E.; HELLMICH, R.L.; WANG, P.; SHELTON, A.M. Bt cotton producing Cry1Ac and Cry2Ab does not harm two parasitoids, *Cotesia marginiventris* and *Copidosoma floridanum*. **Scientific Reports**, 8:307, doi: 10.1038/s41598-017-18620-3, 2018.

THERNEAU, T.M.; GRAMBSCH, P.M. Modeling survival data: extending the cox model. **Springer**, Nova Iorque, 350p., 2000.

THIES, C.; HAENKE, S.; SCHERBER, C.; BENGTSSON, J.; BOMMARCO, R.; CLEMENT, L.W.; CERYNGIER, P.; DENNIS, C.; EMMERSON, M.; GAGIC, V.; HAWRO, V.; LIIRA, J.; WEISSER, W.W.; WINQVIST, C.; TSCHARNTKE, T. The relationship between agricultural intensification and biological control: experimental tests across Europe. **Ecological Applications**, v.21, p.2187-2196, 2011.

TOGNI, P.H.B.; VENZON, M.; LAGÔA, A.C.G.; SUJII, E.R. Brazilian legislation leaning towards fast registration of biological control agents to benefit organic agriculture. **Neotropical Entomology**, v.48, p.175-185, 2019.

TORRES-VILA, L.M.; RODRÍGUEZ-MOLINA, M.C.; LACASA-PLASENCIA, A.; BIELZA-LINO, P. Insecticide resistance of *Helicoverpa armigera* to endosulfan, carbamates and organophosphates: the Spanish case. **Crop Protection**, v.21, p.1003-1013, 2002.

ULRICHS, C.; MEWIS, I. Evaluation of the efficacy of *Trichogramma evanescens* Westwood (Hym., Trichogrammatidae) inundative releases for the control of *Maruca vitrata* F. (Lep., Pyralidae). **Journal of Applied Entomology**, v.128, p. 426-431, 2004 .

URAMOTO, K.; WALDER, J.M.M; ZUCCHI, R.A. Análise quantitativa e distribuição de populações de espécies de *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) no campus Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP. **Neotropical Entomology**, v.32, p.33-39, 2005.

VAN LENTEREN, J.C.; BIGLER, F. **Quality control of mass reared egg parasitoids**. In: F.L. Consoli et al. (eds) *Egg Parasitoids in Agroecosystems with Emphasis on Trichogramma*, Springer, Amsterdam, The Netherlands, 2010. pp 315–340.

VIEIRA, J.M.; QUERINO, R.B.; CÔNSOLI, F.L.; ZUCCHI, R.A. An integrative taxonomic approach to characterize *Trichogramma marandobai* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Zootaxa**, v.4021, p.447-458, 2015.

VOJTECH, E.; MEISSLE, M. POPPY, G.M. Effects of Bt maize on the herbivore *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) and the parasitoid *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae). **Transgenic Research**, v.14, p.133-144, 2005.

WANG, Z.-Y.; HE, K.-H.; ZHANG, F.; LU, X.; BABENDREIER, D. Mass rearing and release of *Trichogramma* for biological control of insect pests of corn in China. **Biological Control**, v. 68, p.136-144, 2014.

WANG, Z.-X.; LI, Y.-H.; HE, K.-L.; BAI, S.-X.; ZHANG, T.-T.; CAI, W.-Z.; WANG, Z.-Y. Does Bt maize expressing Cry1Ac protein have adverse effects on the parasitoid *Macrocentrus cingulum* (Hymenoptera: Braconidae)? **Insect Science**, doi: 10.1111/1744-7917.12352, 2016.

WANG, Z.; CAI, W.; WANG, Q.; ZHAO, J.; LI, Y.; ZOU, Y.; ELGIZAWY, K.K.; HUA, H. Assessing the effects of Cry2Aa protein on *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 110380, doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.110380, 2020.

WILSON, D.D.; RIDWAY, R.L. Morphology, development, and behaviour of the immature stages of the parasitoid, *Campoletis sonorensis* (Hymenoptera: Ichneumonidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v.68, p.191-196, 1975.

WOLFENBARGER, L.L.; NARANJO, S.E.; LUNDGREN, J.G.; BITZER, R.J.; WATRUD, L.S. Bt crop effects on functional guilds of non-target arthropods: a meta-analysis. **Plos One**, v.3. e2118, doi: 10.1371/journal.pone.0002118, 2008.

WU, K.M.; LU, Y.H.; FENG, H.Q.; JIANG, Y.Y.; ZHAO, J.Z. Suppression of cotton bollworm in multiple crops in China in areas with Bt toxin-containing cotton. **Science**, v. 321, p.1676-1678, 2008.

YANG, Y.Z.; YU, Y.S.; REN, L.; SHAO, Y.D.; QIAN, K.; ZALUCKI, M.P. Possible incompatibility between transgenic cottons and parasitoids. **Australian Journal of Entomology**, v.44, p.442-445, 2005.

YANG, Y.; LI, Y.; WU, Y. Current status of insecticide resistance in *Helicoverpa armigera* after 15 years of Bt cotton planting in China. **Journal of Economic Entomology**, v.106, p.375–381, 2013.

YANO, S.A.C.; SPECHT, A.; MOSCARDI, F.; CARVALHO, R.A.; DOURADO, P.M.; MARTINELLI, S.; HEAD, G.P.; SOSA-GÓMEZ, D.R. High susceptibility and low resistance allele frequency of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) field populations to Cry1Ac in Brazil. **Pest Management Science**, v.78, p.1578-1584, 2015.

YU, H.; LI, Y.; LI, X.; WU, K. Arthropod abundance and diversity in transgenic Bt soybean. **Environmental Entomology**, v.43, p.1124-1134, 2014.

ZACHRISSON, B.A.; PARRA, J.R.P. Capacidade de dispersão de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 para o controle de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 em soja. **Scientia Agricola**, v.55, p.133-137, 1998.

ZANUNCIO, J.C.; TORRES, J.B.; SEDIYAMA, C.A.Z.; PEREIRA, F.F.; PASTORI, P.L.; WERMELINGER, E.D.; RAMALHO, F.S. Mortality of the defoliator *Euselasia eucerus* (Lepidoptera: Riodinidae) by biotic factors in an *Eucalyptus urophylla* plantation in Minas Gerais State, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.81, p.61-66, 2009.

ZHAO, J. H.; HO, P.; AZADI, H. Benefits of Bt cotton counterbalanced by secondary pests? Perceptions of ecological change in China. **Environmental Monitoring and Assessment**, v.173, p. 985-994, 2010.

ZHAO, J.H.; HO, P.; AZADI, H. Benefits of Bt cotton counterbalanced by secondary pests? Perceptions of ecological change in China. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 173, p.985-99, 2011.

ZUCCHI, R.A.; QUERINO, R.B.; MONTEIRO, R.C. Diversity and hosts of *Trichogramma* in the New World, with emphasis in South America. In: CONSOLI, F.; PARRA, J.; ZUCCHI, R. Eds. **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on *Trichogramma***. Progress in biological control, Springer, Dordrecht, 2010.