



ISABELA ALMEIDA DURÃES DE RESENDE

**EFEITO DA PAPAÍNA SOBRE O ENDOPARASITOIDE
PUPAL *Palmistichus elaeisis* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE)**

**LAVRAS - MG
2024**

ISABELA ALMEIDA DURÃES DE RESENDE

EFEITO DA PAPAÍNA SOBRE O ENDOPARASITOIDE PUPAL *Palmistichus elaeisis*
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE)

Monografia apresentada à Universidade Federal
de Lavras, como parte das exigências do Curso de
Agronomia, para a obtenção do título de Bacharel.

Profa. Dra. Rosangela Cristina Marucci
Orientadora

Me. Luciano de Souza
Coorientador

LAVRAS – MG
2024

ISABELA ALMEIDA DURÃES DE RESENDE

EFEITO DA PAPAÍNA SOBRE O ENDOPARASITOIDE PUPAL *Palmistichus elaeisis*
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE)

EFFECT OF PAPAIN ON THE PUPAL ENDOPARASITOID *Palmistichus elaeisis*
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE)

Monografia apresentada à Universidade Federal
de Lavras, como parte das exigências do Curso de
Agronomia, para a obtenção do título de Bacharel.

APROVADA em 6 de Agosto de 2024.

Me. Ana Luisa Rodrigues Silva UFLA
Dra. Joanina Gladenucci UFLA
Profa. Dra. Rosangela Cristina Marucci UFLA
Me. Luciano de Souza UFLA

Profa. Dra. Rosangela Cristina Marucci
Orientadora

Me. Luciano de Souza
Coorientador

LAVRAS - MG
2024

*A Deus por estar sempre ao meu lado, pois sem Ele nada disso seria possível.
Aos meus pais Patric e Pollyanna e ao meu irmão Enzo por todo apoio, motivação e amor.
E a todos os meus familiares e amigos.*

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer a Deus por estar sempre ao meu lado, pois sem Ele nada disso seria possível! Obrigada Deus por seu amor e constante presença em minha vida! Aos meus pais, Patric e Pollyanna, minha base e reflexo, exemplos de garra e perseverança, que me motivaram, apoiaram e nunca mediram esforços para que eu chegasse até aqui. Este sonho não era só meu e, sim, nosso! Sou eternamente grata por ter vocês ao meu lado! E ao meu irmão, Enzo, que nessa trajetória veio à vida para me trazer amor e alegria e foi essencial para me fazer crescer e tornar-me um exemplo como irmã. Também dedico essa conquista a todos os meus familiares que estiveram presentes nessa jornada, por todo suporte e incentivo. Aos meus amigos que tornaram esse momento único e repleto de memórias inesquecíveis que vou levar para a vida toda. Agradeço aos meus professores, em especial a minha orientadora Rosângela Cristina Marucci, por cada conselho, ensinamentos e conhecimentos compartilhados, sou extremamente grata pelo seu suporte e dedicação. Ao meu coorientador Luciano de Souza, por me acompanhar, apoiar e orientar durante todo processo, obrigada por me dar forças e sempre estar disposto a me instruir. E por fim, a todos os profissionais da UFLA, que constituíram parte essencial da minha trajetória acadêmica.

RESUMO

O controle biológico é uma estratégia que pode ser empregada no Manejo Integrado de Pragas (MIP) para garantir a sustentabilidade e eficiência das técnicas utilizadas para redução da população de insetos-praga nas lavouras. Dessa forma, para atender à crescente demanda dos produtores, é fundamental verificar se há compatibilidade entre agentes biológicos e potenciais enzimas de plantas, que podem ser usadas como estratégias de controle. A partir disso, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da papaína sobre o parasitoide *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). Os bioensaios foram conduzidos no Laboratório de Controle Biológico de Pragas no Departamento de Entomologia da ESAL/UFLA. O bioensaio 1 foi dividido em três partes, inicialmente avaliou-se o parasitismo de *Palmistichus elaeisis* sobre pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) expostas a papaína. Vinte pupas de *T. molitor*, por tratamento, com até 48 horas de idade foram mergulhadas em solução de papaína 15% (m/v) (grupo tratamento) ou em água (grupo controle) durante 10 - 20 segundos. Em seguida, as pupas foram individualizadas em tubos de vidro (7 x 2,2 cm) e expostas ao parasitismo por seis fêmeas de *P. elaeisis* com até 2 dias de idade, por 72 horas. Na segunda parte, avaliou-se o efeito do contato das fêmeas do parasitoide com a pupa tratada anteriormente, logo ofertou-se uma nova pupa de *T. molitor* sem exposição à papaína para parasitismo por 72 horas. Após a emergência, o número de indivíduos, razão sexual dos descendentes e a duração do ciclo ovo-adulto foram avaliados em ambas as etapas. E na terceira parte, utilizando as mesmas fêmeas (Parte 1), foi avaliada a longevidade do parasitoide exposto a papaína. No bioensaio 2, vinte pupas de *T. molitor*, por tratamento, já parasitadas por 72 horas por fêmeas *P. elaeisis* foram mergulhadas em solução de papaína 15% (m/v) por 10 - 20 segundos seguindo os mesmos procedimentos do Bioensaio 1 (Parte 1). As pupas foram individualizadas em tubos de vidro de fundo chato (7 x 2,2 cm) e no interior de cada tubo uma gotícula de mel fornecida para alimentação. Após a emergência o número de indivíduos, razão sexual dos descendentes e a duração do ciclo ovo-adulto foram avaliados. Em todos os bioensaios a arena experimental foi constituída por um tubo de vidro de fundo chato e uma gotícula de mel foi fornecida para alimentação dos parasitoides. Quando a exposição à papaína ocorre antes do parasitismo não há diferença nos parâmetros biológicos para pupa ofertada logo após a exposição e ofertada posteriormente. Quando a exposição ocorre após o parasitismo foi observado prolongamento no período de desenvolvimento do parasitoide, média de 22,32 dias para o controle e 23,04 dias para o tratamento com papaína. A longevidade de *P. elaeisis* foi maior quando expostos à enzima (média de 17,08 dias), comparada ao controle (15,68 dias). Os resultados deste estudo mostram que a enzima não prejudica o desempenho do parasitoide, independente do momento de contato, garantindo compatibilidade com o agente biológico e seu potencial uso no controle de pragas.

Palavras-chave: Compatibilidade. Parasitismo. Enzima.

ABSTRACT

Biological control is a strategy that can be used in Integrated Pest Management (IPM) to ensure the sustainability and efficiency of the techniques used to reduce the population of insect pests in crops. Therefore, in order to meet the growing demand from producers, it is essential to check for compatibility between biological agents and potential plant enzymes, which can be used as control strategies. The aim of this study was to evaluate the effect of papain on the parasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). The bioassays were conducted at the Biological Pest Control Laboratory in the Entomology Department of ESAL/UFLA. Bioassay 1 was divided into three parts, initially evaluating the parasitism of *P. elaeisis* on pupae of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) exposed to papain. Twenty *T. molitor* pupae, per treatment, up to 48 hours old were dipped in a 15% (w/v) papain solution (treatment group) or in water (control group) for 10 - 20 seconds. The pupae were then individualized in glass tubes (7 x 2.2 cm) and exposed to parasitism by six *P. elaeisis* females up to 2 days old for 72 hours. In the second part, the effect of the parasitoid females contact with the previously treated pupa was evaluated, after which a new *T. molitor* pupa without exposure to papain was offered for parasitism for 72 hours. After emergence, the number of individuals, the sex ratio of the offspring and the duration of the egg-adult cycle were evaluated in both stages. And in the third part, using the same females (Part 1), the longevity of the parasitoid exposed to papain was assessed. In Bioassay 2, twenty *T. molitor* pupae per treatment, already parasitized for 72 hours by *P. elaeisis* females, were dipped in a 15% (w/v) papain solution for 10 - 20 seconds following the same procedures as in Bioassay 1 (Part 1). The pupae were individualized in flat-bottomed glass tubes (7 x 2.2 cm) and inside each tube a droplet of honey was provided for feeding. After emergence, the number of individuals, the sex ratio of the offspring and the duration of the egg-adult cycle were evaluated. In all the bioassays, the experimental arena consisted of a flat-bottomed glass tube and a droplet of honey was fed to the parasitoids. When exposure to papain occurs before parasitism, there is no difference in the biological parameters for pupae offered immediately after exposure and those offered later. When exposure occurred after parasitism, the parasitoid's development period was extended, with an average of 22.32 days for the control and 23.04 days for the papain treatment. The longevity of *P. elaeisis* was greater when exposed to the enzyme (average of 17.08 days), compared to the control (15.68 days). The results of this study show that the enzyme does not harm the performance of the parasitoid, regardless of the time of contact, ensuring compatibility with the biological agent and its potential use in pest control.

Keywords: Compatibility. Parasitism. Enzyme.

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 – Desenvolvimento embrionário de <i>Palmistichus elaeisis</i> . A, ovos recém-colocados, 260x; B, ovo com larva em desenvolvimento (L), 260x; C, ovo com larva completamente desenvolvida, 260x.; D, larva eclodida (48 h); E, larva recém-eclodida, 210x; F, larva típica do 1º ínstar (72 h). As pontas de seta indicam a região anterior das larvas; (i) = córion, 240x; (→) = mandíbula, 120x. Escala=0,1 mm.....	15
Figura 2 – Formas imaturas de <i>Palmistichus elaeisis</i> . A, larva; B, pré-pupa; C, pupas. Escala=0,1 mm.....	15
Figura 3 – Adulto de <i>Palmistichus elaeisis</i>	16
Figura 4 – Estrutura tridimensional da papaína.....	18
Figura 5 – Modelo tridimensional para a papaína. As cores cinza indicam os átomos de oxigênio e hidrogênio da espinha dorsal dos resíduos de aminoácidos com a cadeia lateral hidrofóbica.....	18
Figura 6 – Tempo de desenvolvimento, progênie e razão sexual de <i>Palmistichus elaeisis</i> em pupas de <i>Tenebrio molitor</i> expostas à papaína antes do parasitismo.....	21
Figura 7 – Tempo de desenvolvimento, progênie e razão sexual de <i>Palmistichus elaeisis</i> em pupas de <i>Tenebrio molitor</i> quando as fêmeas tiveram contato prévio com hospedeiro tratado com papaína.....	22
Figura 8 – Curva de sobrevivência de fêmeas de <i>Palmistichus elaeisis</i> expostas à papaína.....	23
Figura 9 – Tempo de desenvolvimento, progênie e razão sexual de <i>Palmistichus elaeisis</i> em pupas de <i>Tenebrio molitor</i> expostas à papaína depois do parasitismo.....	24

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	11
2.1	Manejo Integrado de Pragas (MIP).....	11
2.2	Controle Biológico de Pragas.....	12
2.2.1	Parasitoides.....	13
2.2.1.1	<i>Palmistichus elaeisis</i>.....	14
2.3	Uso de Enzimas no Controle de Pragas.....	16
2.3.1	Papaína.....	16
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	19
4	RESULTADOS.....	21
4.1	Bioensaio 1.....	21
4.2	Bioensaio 2.....	23
5	DISCUSSÃO	25
6	CONCLUSÃO	27
	REFERÊNCIAS	28

1 INTRODUÇÃO

O agronegócio é essencial para a produção de alimentos e possui extrema responsabilidade em garantir maior segurança alimentar global. Entretanto, diversos são os desafios enfrentados ao longo do ciclo das culturas que se tornam barreiras significativas para que seja possível atingir altas produtividades nas lavouras, como exemplo têm-se as perdas geradas pelas pragas. De acordo com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), estima-se que pragas e doenças podem reduzir o rendimento das culturas de 20 a 40% a nível mundial por ano, fato que comprova a relevância da busca por alternativas mais eficientes de controle (Finegold et al., 2019).

O método que tem sido amplamente empregado é o controle químico, que permite maior proteção das plantas frente aos desafios em campo, como o ataque de pragas. Porém, o uso indiscriminado de defensivos causa impactos severos ao meio ambiente, até mesmo à saúde humana, visto que podem ser encontrados resíduos químicos, prejudiciais à saúde, em alimentos que são consumidos no dia a dia pela população. Outro problema oriundo do uso excessivo de agrotóxicos é a resistência de pragas às moléculas presentes como ingredientes ativos, logo, torna-se fundamental a busca por novas alternativas de controle que sejam mais sustentáveis e eficazes.

O Manejo Integrado de Pragas (MIP) é um sistema que tem sido promissor como estratégia para garantir um controle mais eficiente das pragas, que prioriza o bem-estar humano e a preservação da fauna e flora. Por meio do uso de técnicas integradas como manejos biológicos, culturais, químicos e físicos, visando manter a população dos insetos-praga abaixo do nível de dano econômico, é possível obter altas produtividades levando em consideração fatores relacionados a eficiência, economia, ecotoxicologia e parâmetros sociológicos.

Tem sido empregada no MIP uma prática ecológica que promove a redução de pragas nas lavouras, minimiza a necessidade do uso de agrotóxicos e garante a manutenção da biodiversidade por meio do uso de macrorganismos e microrganismos, sendo denominada controle biológico. Dentre as estratégias do controle biológico, tem destaque o uso de parasitoides. Como exemplo dessa prática, tem-se a utilização de vespas que apresentam uma fase de desenvolvimento que ocorre no interior ou sobre o corpo de um inseto hospedeiro, levando-o à morte. Dessa forma, torna-se possível o controle de pragas a partir da liberação de inimigos naturais em campo.

Palmistichis elaeisis (Delvare & LaSalle, 1993) (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide gregário capaz de parasitar pupas de lepidópteros de importância econômica. Pode-se destacar uma diversidade de famílias de lepidópteros que esse parasitoide é capaz de parasitar, sendo elas Arctiidae (Pereira et al., 2008), Bombycidae (Pereira et al., 2010a), Crambidae (Bittencourt; Berti Filho, 2004; Chichera et al., 2012), Lymantriidae (Tavares et al., 2012; Zaché; Zaché; Wilcken, 2012), Noctuidae (Andrade et al., 2010; Bittencourt; Berti Filho, 2004; Pereira et al., 2013), Nymphalidae (Tavares et al., 2013b), Notodontidae (Zanuncio et al., 2015), Papilionidae (Tavares et al., 2013a), e Saturniidae (Pereira et al., 2008), assim como a família Muscidae (Zaché et al., 2013), que compõe a ordem Diptera. *P. elaeisis* apresenta grande potencial como agente de controle biológico, sendo que, de maneira alternativa, também é capaz de se desenvolver em pupas de Coleoptera da família Tenebrionidae.

Outra ferramenta a ser destacada está relacionada ao uso dos biopesticidas para o controle de pragas, visto que são compostos facilmente degradados, promovem a conservação ambiental e, conseqüentemente, preservam a saúde humana. Como exemplo, têm-se as proteases, enzimas capazes de hidrolisar ligações peptídicas em proteínas para fragmentos menores denominados peptídeos, e que podem compor formulações de biopesticidas (Fernández-Lucas; Casteñeda; Hormigo, 2017; Tremacoldi, 2009). A papaína, enzima extraída do látex de frutos de papaia (*Carica papaya*), tem sido estudada devido ao seu potencial no controle de pragas (Batoool et al., 2021; Castro et al., 2023; Konno et al., 2004; Wijanarko et al., 2017), porém ainda é necessário verificar possíveis efeitos que essa protease pode ter frente aos inimigos naturais, que são aliados no controle biológico de pragas.

Dessa maneira, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da papaína sobre o endoparasitoide pupal *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae), no que diz respeito ao parasitismo, longevidade e desenvolvimento, independente do momento de contato, para que seja possível garantir a compatibilidade dessa enzima com o agente biológico e esclarecer seu potencial uso no controle de pragas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Manejo Integrado de Pragas (MIP)

O agronegócio representa cerca de 21,5% do Produto Interno Bruto (PIB) brasileiro (Cepea, 2024), dado que comprova a importância de aplicar as técnicas de manejo adequadas nas lavouras para atingir altas produtividades e, assim, garantir a disponibilidade de alimentos para a sociedade de forma mais sustentável. A partir disso, o Manejo Integrado de Pragas (MIP) tem sido um aliado para os produtores, visando abranger uma série de estratégias que permitam o controle de pragas nas áreas agrícolas de maneira mais eficiente.

O MIP consiste na adoção de diferentes estratégias de controle com o objetivo de manter a população de insetos-praga abaixo do nível de dano econômico para as culturas agrícolas, levando em consideração aspectos econômicos, sociais e ecológicos (Picanço, 2010). Essa ferramenta tem contribuído na redução da dependência do uso de inseticidas químicos, consequentemente, garantindo a preservação dos inimigos naturais e do meio ambiente, minimizando a contaminação ambiental e permitindo maior segurança alimentar para a população (Miranda, 2010; Moura et al., 2014).

A base do MIP é inicialmente o reconhecimento das pragas-chave e dos agentes de controle biológico presentes nas áreas, incluindo conhecimentos sobre a biologia, hábitos e outros aspectos relevantes de cada um deles. Além disso, é necessário compreender os estádios fenológicos da cultura e avaliar os fatores abióticos que são responsáveis pelo balanço populacional das espécies, como: temperatura, pluviosidade, vento e radiação solar (Picanço, 2010; Salvadori; Tonet, 2001). A partir disso, faz-se a avaliação populacional das pragas por meio de amostragens, para a definição dos níveis de dano e controle que serão fundamentais para a escolha dos métodos de controle mais adequados de acordo com cada situação vivenciada em campo (Picanço, 2010).

Diversas são as táticas de manejo que compreendem o MIP e podem ser implementadas pelo produtor de acordo com o problema enfrentado, levando em consideração a eficiência, economia, ecotoxicologia e parâmetros sociológicos. Tem-se como exemplos os métodos culturais, controle biológico, controle químico, resistência de plantas, entre outros (Picanço, 2010; Tinoco; Silva; Rocha, 2023).

2.2 Controle Biológico de Pragas

O controle biológico de pragas é uma ferramenta que tem sido cada vez mais aplicada no campo em busca de uma agricultura mais sustentável, e basicamente está associada ao uso de inimigos naturais, como seres macroscópicos e microscópicos, para o controle de pragas nos agroecossistemas (Fontes; Pires; Sujii, 2020). Essa estratégia, em conjunto com outros métodos, auxilia na conservação dos habitats naturais e redução do uso de agrotóxicos, que se aplicados de forma inadequada podem causar prejuízos severos ao ser humano e ao meio ambiente (Fontes; Pires; Sujii, 2020; Oliveira; Ávila, 2010).

O controle biológico atua na manutenção da população de espécies presentes na natureza que estão envolvidas em interações tróficas, sendo assim, ao longo das cadeias alimentares há uma tendência que se atinja um equilíbrio do número de indivíduos encontrados em um ambiente. Vale ressaltar que a regulação das populações de pragas e inimigos naturais não ocorre somente por fatores bióticos, como abundância de alimentos ou presença de inimigos naturais, mas também através de fatores abióticos como a chuva, vento, temperatura e umidade (Berti Filho; Macedo, 2011; Sujii et al., 2020).

Dentre as estratégias de uso do controle biológico, tem-se o controle biológico natural e aplicado (clássico, aumentativo e conservativo). O controle biológico natural ocorre em condições de não interferência do homem em florestas nativas, campos de vegetação natural e formações vegetais diversas. Já o aplicado pode ser do tipo clássico, que ocorre a importação de um inimigo natural exótico para controle de uma praga exótica; do tipo aumentativo, que visa a liberação inundativa ou periódica de inimigos naturais criados em larga escala; e, por fim, o controle biológico conservativo que busca promover a manutenção do ambiente para favorecer a chegada e a permanência de populações de inimigos naturais (Berti Filho; Macedo, 2011; Fontes; Pires; Sujii, 2020).

Como agentes de controle de insetos-praga tem-se os predadores, parasitoides e entomopatógenos, que atuam no controle de pragas nas lavouras de formas distintas. Os predadores são caracterizados por se alimentarem de várias presas para se desenvolverem ao longo do seu ciclo de vida, enquanto parasitoides exigem somente um hospedeiro para completar o seu desenvolvimento, causando ao final a sua morte (Laumann; Sampaio, 2020; Parra et al., 2002). Já os entomopatógenos são microrganismos responsáveis por causar doenças nos insetos, como fungos, bactérias, vírus e nematoides (Sujii et al., 2020).

2.2.1 Parasitoides

Os parasitoides são inimigos naturais que atuam na manutenção de populações de insetos-praga presentes no meio ambiente e são extremamente importantes, visto a abundância de espécies e hospedeiros (Barbosa et al., 2016). Eles são capazes de parasitar outros insetos, já que necessitam de um outro organismo para completar seu ciclo. Dessa forma, seu hospedeiro não é capaz de atingir a fase adulta, pelo fato do parasitoide se nutrir do mesmo durante sua fase imatura. Em consequência disso, o hospedeiro morre, enquanto o agente de controle biológico adulto emerge e tem uma vida livre. (Laumann; Sampaio, 2020).

Esses insetos podem ser classificados em dois grandes grupos: ectoparasitoides, aqueles em que o desenvolvimento da fase imatura ocorre externamente ao corpo do hospedeiro, e os endoparasitoides, cujo desenvolvimento da fase imatura ocorre internamente. Inicialmente, a fêmea parasitoide precisa encontrar um hospedeiro para fazer a oviposição. Para buscá-lo, ela utiliza como guia voláteis provenientes de plantas, injúrias, fezes do hospedeiro, entre outras substâncias, e, assim, identifica-o com o auxílio de suas antenas (Laumann; Sampaio, 2020).

O uso do hospedeiro pelo parasitoide pode variar de acordo com o número de ovos depositados pela fêmea, podendo ser um único ovo (solitário) ou um conjunto de ovos (gregário). Em alguns casos tem-se o superparasitismo, quando a fêmea do parasitoide ou outra da mesma espécie realiza a oviposição em um mesmo hospedeiro de forma descontrolada. Dessa forma há um aumento da competição entre as larvas e, conseqüentemente, pode gerar a morte prematura do hospedeiro ou prejudicar o desenvolvimento dos parasitoides. Também há o multiparasitismo quando fêmeas de espécies diferentes depositam seus ovos no mesmo hospedeiro, assim apenas uma delas sobreviverá (Laumann; Sampaio, 2020). Por fim, o hiperparasitismo que pode ser denominado como parasitismo secundário, visto que um hiperparasitoide parasita um outro parasitoide, externamente ou internamente (Berti Filho; Macedo, 2011).

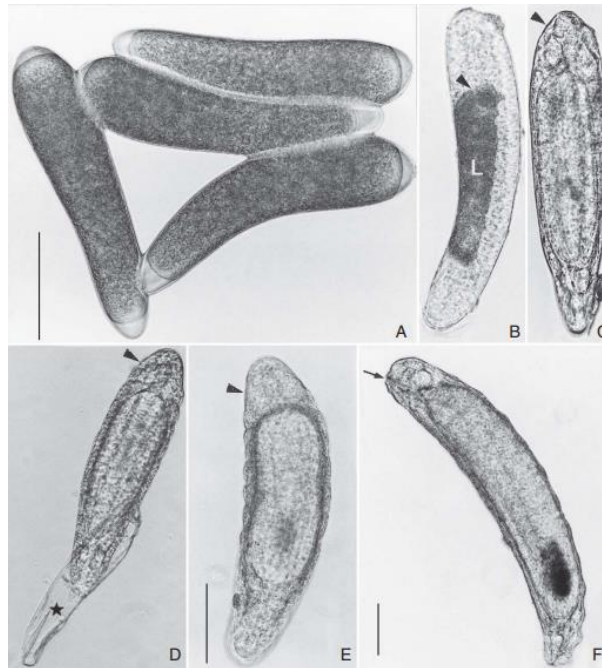
Existe uma diversidade de espécies de parasitoides encontrados no ambiente que estão presentes nas ordens Hymenoptera, Diptera, Coleoptera, Strepsiptera, Lepidoptera e Neuroptera, sendo a primeira caracterizada pela maior diversidade, com aproximadamente 75% de todas as espécies de parasitoides descritas (Belshaw; Grafen; Quicke, 2003). Normalmente, o ciclo de vida dos parasitoides ocorre sobre outros insetos, mas há também o parasitismo em aranhas, centopeias e crustáceos (Laumann; Sampaio, 2020).

2.2.1.1 *Palmistichus elaeisis*

Palmistichus elaeisis (Delvare & LaSalle, 1993) (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide gregário conhecido pela capacidade em parasitar pupas de lepidópteros de importância econômica (Rolim et al., 2020). Entre esses lepidópteros destacam-se insetos das famílias Arctiidae (Pereira et al., 2008), Bombycidae (Pereira et al., 2010a), Crambidae (Bittencourt; Berti Filho, 2004; Chichera et al., 2012), Lymantriidae (Tavares et al., 2012; Zaché; Zaché; Wilcken, 2012), Noctuidae (Andrade et al., 2010; Bittencourt; Berti Filho, 2004; Pereira et al., 2013), Nymphalidae (Tavares et al., 2013b), Notodontidae (Zanuncio et al., 2015), Papilionidae (Tavares et al., 2013a), e Saturniidae (Pereira et al., 2008). Além disso, parasita insetos da ordem Diptera, especificamente da família Muscidae (Zaché et al., 2013). Alternativamente, também se desenvolve em pupas de Coleoptera da família Tenebrionidae (Zanuncio et al., 2008). Por apresentar ampla gama de hospedeiros, a espécie apresenta grande potencial como agente de controle biológico.

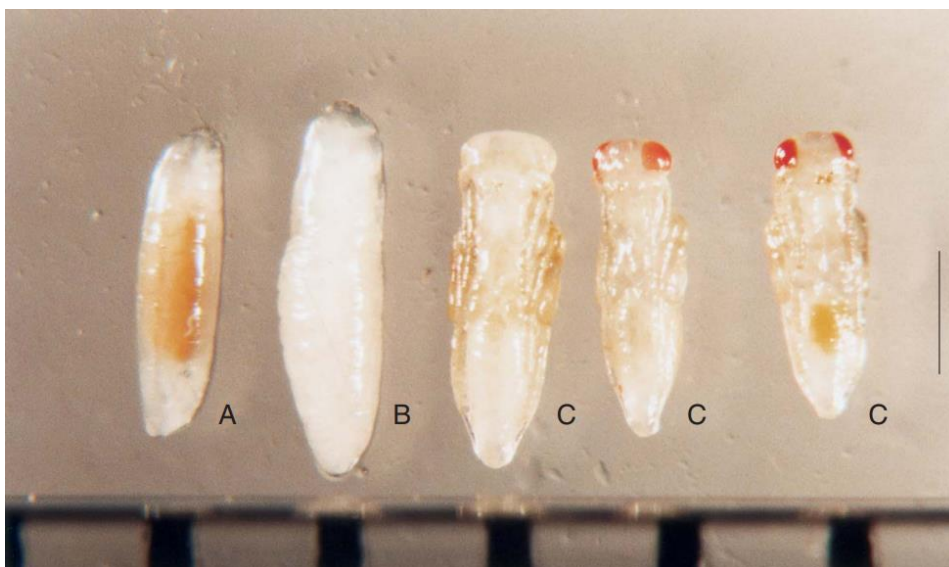
Em relação a biologia dos parasitoides pertencentes a ordem Hymenoptera, em geral, seus ovos são do tipo himenopteriforme, as larvas são fusiformes, ápodas, com tegumento liso, sendo que, em alguns casos, pequenos espinhos ou cerdas podem ser encontrados. Possuem de 12 a 13 segmentos, são sedentárias e apresentam mesêntero cego e geralmente três a cinco instares durante seu ciclo de vida. Além disso, em alguns casos, observa-se o estágio de pré-pupa (Bittencourt; Berti Filho, 2004). Se tratando de *P. elaeisis*, o período de incubação dura, aproximadamente, 48 horas em pupas das seguintes espécies de lepidópteros: *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Crambidae), *Anticarsia gemmatalis* (Hübner, 1818), *Heliothis virescens* (Fabricius, 1781), *Spodoptera frugiperda* (Noctuidae) e *Thyrinteina arnobia* (Stoll, 1782) (Geometridae). As larvas de 1º instar são ápodas e apresentam 12 segmentos, enquanto as larvas dos 2º, 3º e 4º instares (5 a 10 dias) possuem segmentação bem definida. Em todos os hospedeiros mencionados acima, o estágio larval dura em torno de $8,04 \pm 17$ dias, de pré-pupa aproximadamente 24 horas, enquanto o pupal dura $9,8 \pm 0,17$ dias (Bittencourt; Berti Filho, 2004).

Figura 1. Desenvolvimento embrionário de *Palmistichus elaeisis*. A, ovos recém-colocados, 260x; B, ovo com larva em desenvolvimento (L), 260x; C, ovo com larva completamente desenvolvida, 260x.; D, larva eclodida (48 h); E, larva recém-eclodida, 210x; F, larva típica do 1º ínstar (72 h). As pontas de seta indicam a região anterior das larvas; (i) = córion, 240x; (→) = mandíbula, 120x. Escala = 0,1 mm.



Fonte: Bittencourt & Berti Filho (2004).

Figura 2. Formas imaturas de *Palmistichus elaeisis*. A, larva; B, pré-pupa; C, pupas. Escala = 0,1 mm.



Fonte: Bittencourt & Berti Filho (2004).

Figura 3. Adulto de *Palmistichus elaeisis*.



Fonte: Original de Deisy Yisenia Quiceno Mayo (2024).

Para serem produzidos em larga escala e usados como agentes de controle biológico, inicialmente os inimigos naturais devem ser criados em laboratório por meio de hospedeiros naturais ou alternativos. Em geral, hospedeiros alternativos são mais utilizados em vista do seu menor custo de aquisição e facilidade de produção (Pereira et al., 2010b). *Tenebrio molitor* (Linnaeus, 1785) (Coleoptera: Tenebrionidae) é um inseto utilizado, especificamente durante o estágio pupal, como hospedeiro alternativo para criação de inimigos naturais como *P. elaeisis*, (Zanuncio et al., 2008). De acordo com estudos realizados por Zanuncio et al., (2008) a porcentagem de parasitismo e emergência de *P. elaeisis* em pupas de *T. molitor* foram de 100,00 e 90,76%, respectivamente, sendo $23,42 \pm 0,18$ dias a duração do ciclo de vida (ovo-adulto). A progênie obtida por pupa do hospedeiro foi de $70,07 \pm 2,50$ e razão sexual de $0,94 \pm 0,01$. Em relação a longevidade média, tem-se $22,65 \pm 1,13$ dias para fêmeas e para machos $28,3 \pm 2,38$ dias.

2.3 Uso de Enzimas no Controle de Pragas

Como alternativa aos inseticidas químicos, os biopesticidas se tornaram uma opção ecológica e socialmente interessante, visto que são compostos facilmente degradados, resultando na conservação ambiental pela não liberação de substâncias nocivas ao meio

ambiente e ao ser humano, assim como garante a sobrevivência de espécies benéficas ao agroecossistema. Basicamente, esses produtos são compostos naturais obtidos através da extração de ativos de vegetais, animais e até mesmo de microrganismos, que possuem efeitos benéficos no controle de pragas como o piretro, rotenona, óleo de neem, etc (Askary et al., 2022).

Entre esses compostos pode-se citar as proteases, enzimas que hidrolisam ligações peptídicas em proteínas para fragmentos menores denominados peptídeos (Fernández-Lucas; Casteñeda; Hormigo, 2017; Tremacoldi, 2009). Essas enzimas são muito empregadas em processos industriais como no âmbito farmacêutico, produção de detergentes e na área da alimentação, representando em torno de 60% da participação no mercado mundial (Fernández-Lucas; Casteñeda; Hormigo, 2017).

As proteases podem ser classificadas de acordo com a natureza do seu sítio ativo, sendo definidas como serinoproteases, cisteína proteases, proteases aspárticas e glutâmicas, metaloproteases, treonina proteases e asparagina peptídeo liase (Rawlings; Barrett; Bateman, 2011). Dentre as enzimas denominadas cisteínas, pode-se enfatizar àquelas de origem vegetal provenientes da família papaína (Rawlings; Barrett; Bateman, 2009), extraídas do látex de frutos de papaia (*Carica papaya*), na bromelaína do ananás (*Ananas comosus*) presente no abacaxi e a queratinase, proveniente de determinados grupos botânicos (Fernández-Lucas; Casteñeda; Hormigo, 2017). Mesmo sendo mais empregadas no setor industrial, as proteases vegetais têm sido estudadas em outros contextos, como exemplo na eficácia da bromelaína do ananás no controle de carrapatos (Domingues et al., 2013a) e de nematoides (Domingues et al., 2013b), assim como a papaína para o controle de pragas (Kovendan et al., 2012; Peachey et al., 2016).

2.3.1 Papaína

A papaína (número de acesso PDB 1CVZ) é uma proteína globular de cadeia única, com peso molecular de 23.406 DA, sendo composta por 212 aminoácidos com quatro pontes dissulfeto e, nas posições Gln19, Cys25, His158 e His159, apresenta resíduos cataliticamente importantes (Alecio; Dann; Lowe, 1974; Mitchel; Chaiken; Smith, 1970; Tsuge et al., 1999). Sua estrutura tridimensional constitui-se de dois domínios estruturais, sendo um totalmente α -hélice e outro β -folha antiparalelo (Kamphuis et al., 1984; Madej et al., 2012). Entre os domínios há uma fenda que contém o local ativo, onde há uma díade catalítica composta pelos aminoácidos cisteína-25 e histidina-159. As enzimas do grupo das cisteíno-proteases têm como

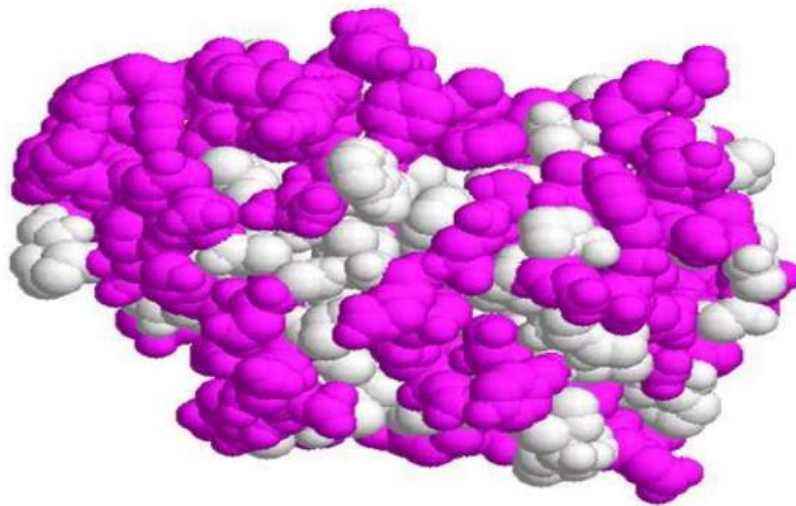
principal função nas plantas atuar na fisiologia, como exemplo sobre a germinação de sementes e no sistema de defesa (Castro; Braga; Soares, 2023).

Figura 4. Estrutura tridimensional da papaína.



Fonte: Mamboy & Amri (2012).

Figura 5. Modelo tridimensional para a papaína. As cores cinza indicam os átomos de oxigênio e hidrogênio da espinha dorsal dos resíduos de aminoácidos com a cadeia lateral hidrofóbica.



Fonte: Mamboy & Amri (2012).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Controle Biológico de Pragas (LCBIOL), localizado no Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras (DEN/UFLA), no município de Lavras, Minas Gerais.

A enzima vegetal papaína utilizada foi obtida comercialmente (Dinâmica Química Contemporânea LTDA, Brasil) pelo Laboratório de Bioquímica do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras (DQI/UFLA).

BIOENSAIO 1

PARTE 1 - Avaliação do parasitismo de *Palmistichus elaeisis* sobre pupas de *Tenebrio molitor* expostas a papaína.

Pupas de *T. Molitor*, com até 48 horas de idade, foram obtidas da criação experimental do LCBIOL. As pupas foram mergulhadas em solução de papaína 15% (m/v) ou em água durante 10-20 segundos e retiradas logo em seguida. Portanto, o bioensaio foi dividido em dois grupos: grupo controle (pupas mergulhadas em água destilada) e grupo tratamento (pupas mergulhadas na enzima). Vinte pupas foram utilizadas para cada grupo. Em seguida, as pupas foram individualizadas em tubos de vidro de fundo chato (7 x 2,2 cm) e expostas ao parasitismo por seis fêmeas de *P. elaeisis* com até 2 dias de idade, por 72 horas. No interior de cada tubo, uma gotícula de mel foi fornecida para alimentação (Zanuncio et al., 2008). Após a emergência, o número de indivíduos, razão sexual dos descendentes e a duração do ciclo ovo-adulto foram avaliados.

PARTE 2 - Avaliação do efeito do contato de fêmeas de *Palmistichus elaeisis* à papaína.

Após a retirada da primeira pupa de *T. molitor*, foi ofertada para as mesmas fêmeas (Parte 1) uma outra pupa sem tratamento, que foi exposta ao parasitismo por 72 horas, com o intuito de avaliar o efeito do contato da fêmea do parasitoide com a pupa tratada anteriormente. Após a emergência, o número de indivíduos, razão sexual dos descendentes e a duração do ciclo ovo-adulto foram avaliados.

PARTE 3 - Longevidade das fêmeas de *Palmistichus elaeisis* expostas a papaína.

A mortalidade das fêmeas de *P. elaeisis* que tiveram contato com as pupas do Bioensaio 1 (Parte 1) foi avaliada diariamente a fim de se construir curvas de sobrevivência e estimar a longevidade média dos insetos.

BIOENSAIO 2 - Emergência de *Palmistichus elaeisis* em pupas parasitadas de *Tenebrio molitor* expostas a papaína.

Vinte pupas de *T. molitor*, por tratamento, já parasitadas por 72 horas por fêmeas *P. elaeisis*, foram mergulhadas em solução de papaína 15% (m/v) por 10 - 20 segundos seguindo os mesmos procedimentos do Bioensaio 1 (Parte 1). As pupas foram individualizadas em tubos de vidro de fundo chato (7 x 2,2 cm) e no interior de cada tubo uma gotícula de mel fornecida para alimentação (Zanuncio et al., 2008). Após a emergência o número de indivíduos, razão sexual dos descendentes e a duração do ciclo ovo-adulto foram avaliados.

Análise estatística

Os dados dos Bioensaios 1 (Parte 1 e 2) e 2 foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk a nível de significância de 95%. Posteriormente, foram submetidos ao Teste t e os grupos foram comparados pelo teste de Mann-Whitney a nível de significância de 95%. As curvas de sobrevivência Kaplan-Meier obtidas no Bioensaio 1 (Parte 3) foram comparadas pelo teste de Mantel-Cox (Log-rank) a 95% de significância.

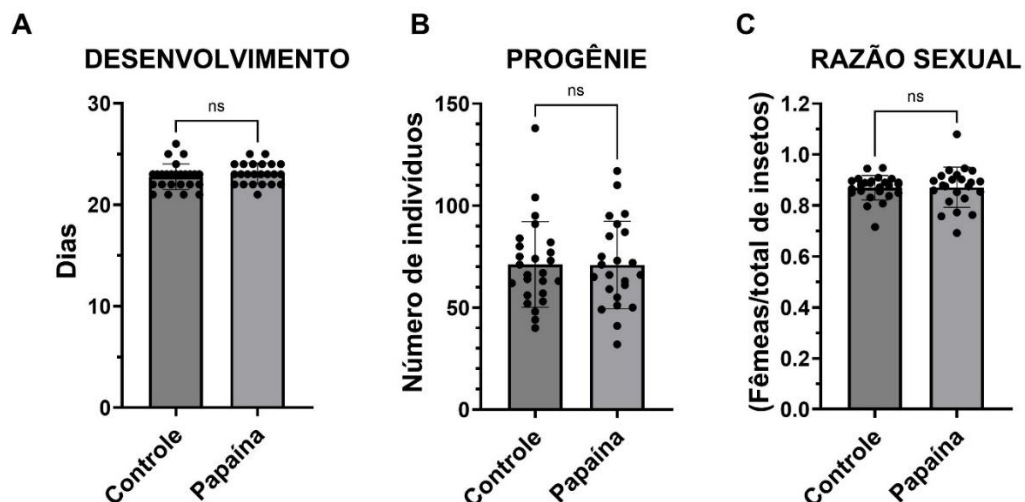
4 RESULTADOS

4.1 Bioensaio 1

Parte 1 - Avaliação do parasitismo de *Palmistichus elaeisis* sobre pupas de *Tenebrio molitor* expostas a papaína.

Não houve diferença ($p = 0,2359$) no tempo de desenvolvimento de *P. elaeisis* do tratamento controle (22,76 dias) em relação ao tratamento com papaína (23,09 dias) (Figura 6A). O número de descendentes não variou ($p > 0,9999$) entre tratamento controle e papaína, 71,16 e 70,87, respectivamente (Figura 6B), assim como a razão sexual ($p = 0,7552$), que foi de 0,87 nos dois tratamentos (Figura 6C).

Figura 6. Tempo de desenvolvimento, progênie e razão sexual de *Palmistichus elaeisis* em pupas de *Tenebrio molitor* expostas à papaína antes do parasitismo.



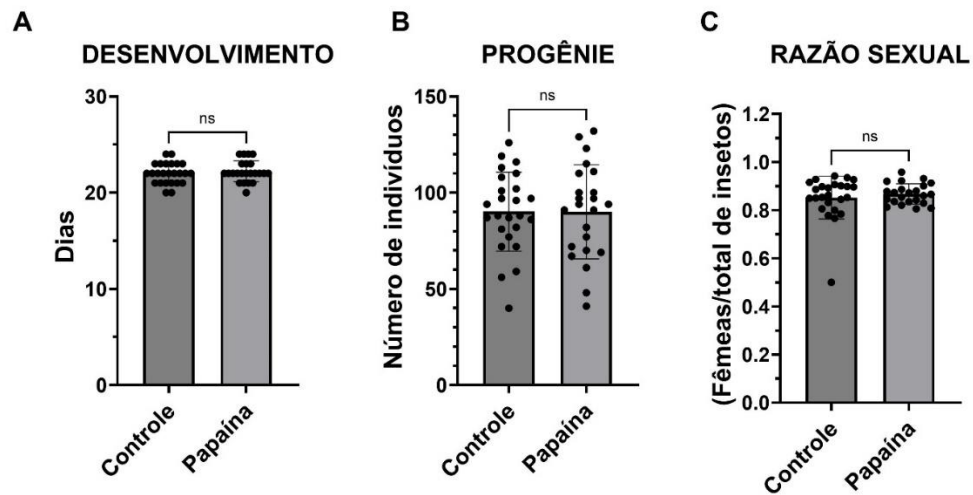
Fonte: da autora (2024).

Parte 2 - Avaliação do efeito do contato de fêmeas de *Palmistichus elaeisis* à papaína.

Não houve diferença ($p = 0,5548$) no tempo de desenvolvimento de *P. elaeisis* no tratamento controle (22 dias) em relação ao tratamento com papaína (22,22 dias) (Figura 7A). O número de descendentes foi similar ($p > 0,9999$) no tratamento controle e na papaína, 90,16 e 90,04, respectivamente (Figura 7B). Do mesmo modo, a razão sexual da progênie não foi

afetada ($p = 0,9716$), no tratamento controle foi de 0,85, enquanto no tratamento com papaína foi de 0,87 (Figura 7C).

Figura 7. Tempo de desenvolvimento, progênie e razão sexual de *Palmistichus elaeisis* em pupas de *Tenebrio molitor* quando as fêmeas tiveram contato prévio com hospedeiro tratado com papaína.

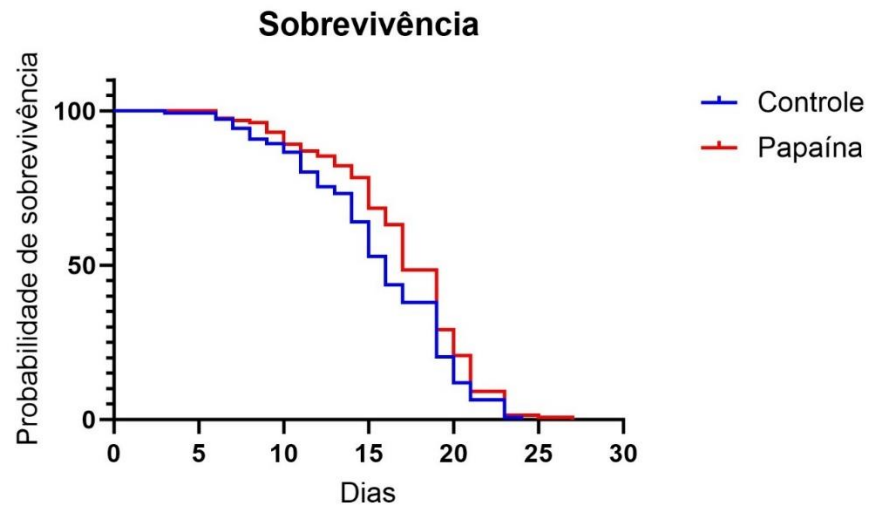


Fonte: da autora (2024).

Parte 3 - Longevidade das fêmeas de *Palmistichus elaeisis* expostas a papaína.

A análise Log-rank ($\chi^2 = 6,264$, $df = 1$ e $p = 0,0123$) das curvas de sobrevivência das fêmeas de *P. elaeisis* expostas ao tratamento controle e à papaína demonstra que há diferença significativa na sobrevivência dos insetos expostos à enzima. Os valores médios de sobrevivência obtidos foram de 15,68 dias para o tratamento controle e 17,08 dias para os insetos expostos à papaína (Figura 8).

Figura 8. Curva de sobrevivência de fêmeas de *Palmistichus elaeisis* expostas à papaína.

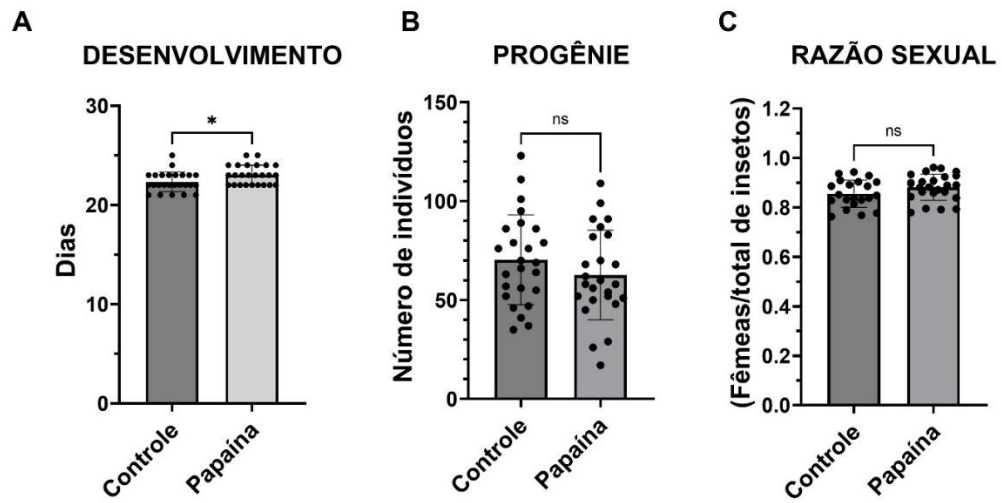


Fonte: da autora (2024).

4.2 Bioensaio 2

O tempo de desenvolvimento de *P. elaeisis* variou ($p = 0,0135$) entre o tratamento controle (22,32 dias) e o tratamento com papaína (23,04 dias) (Figura 8A). O número de descendentes foi similar ($p = 0,3042$), 70,36 e 62,64 nos tratamentos controle e papaína respectivamente (Figura 8B), assim como a razão sexual ($p = 0,0973$), 0,86, no tratamento controle e 0,88 na papaína (Figura 8C).

Figura 9. Tempo de desenvolvimento, progênie e razão sexual de *Palmistichus elaeisis* em pupas de *Tenebrio molitor* expostas à papaína depois do parasitismo.



Fonte: da autora (2024).

5 DISCUSSÃO

As proteases são enzimas que hidrolisam ligações peptídicas em proteínas para fragmentos menores denominados peptídeos, e assim, em seus constituintes, os aminoácidos (Fernández-Lucas; Castañeda; Hormigo, 2017; Tremacoldi, 2009). Elas podem apresentar atividade inseticida através de três principais mecanismos. O primeiro age sobre a matriz peritrófica (MP), rede de fibrilas de quitina ligadas a glicoproteínas e proteoglicanos, que reveste o epitélio do intestino médio da maioria dos insetos. As proteases atuam na perturbação, bloqueio da formação ou regeneração da MP e, como consequência, irá causar um retardamento no crescimento do inseto e até mesmo a sua morte, pelo fato do epitélio danificado ser incapaz de continuar absorvendo nutrientes. O segundo atua sobre a cutícula do exoesqueleto, causando a sua degradação e comprometendo a integridade estrutural do corpo do inseto, que pode levar a sua morte. E o terceiro mecanismo tem como alvo as membranas basais, que são folhas extracelulares de proteínas que envolvem os tecidos dos animais, promovendo suporte estrutural, função de filtragem e uma superfície de fixação, migração e diferenciação de células. Dessa forma, a enzima afeta as funções fisiológicas do inseto, podendo levá-lo a morte (Harrison; Bonning, 2010).

Estudos mostram que a papaína apresenta atividade inseticida sobre diversas pragas como por exemplo a *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819) (Lepidoptera: Gelechiidae) em que após o encapsulamento da papaína com pontos quânticos de grafeno a população do inseto reduziu em 22,1%, 19,7%, 49,8% e 66,7% em termos de ovos, larvas, pupas e adultos (Batoool et al., 2021). De acordo com Castro et al., (2023) o látex do mamão apresenta atividade nematicida e proteolítica contra *Panagrellus* sp. (Goodey, 1945) (Nematoda: Panagrolaimidae), assim como verificou-se um efeito tóxico contra *T. molitor*, já que afeta o comportamento alimentar das larvas, a metamorfose pupa-adulto e a sobrevivência de pupas e larvas. Outro estudo mostra que as cisteíno-proteases presentes em mamoeiro (*Carica papaya* L.) (Brasicales: Caricaceae) e figueira (*Ficus virgata*) (Linnaeus, 1753) (Rosales: Moraceae) causam alta toxicidade e inibição de crescimento de larvas de lepidópteros (Konno et al., 2004). Observou-se também ação do extrato da papaína sobre *Spodoptera litura* (Fabricius, 1775) (Lepidoptera: Noctuidae) uma das principais pragas da pimenta vermelha (*Capsicum annuum* L.), (Solanales Solanaceae) sendo capaz de causar mortalidade (Wijanarko et al., 2017).

Na pesquisa realizada o tempo de desenvolvimento médio da progênie de *P. elaeisis* nas pupas de *T. molitor* expostas a papaína antes e após o parasitismo não foi afetado. De acordo com Zanuncio et al. (2008) a duração do ciclo de vida (ovo-adulto) observado no trabalho

desenvolvido foi de $23,42 \pm 0,18$ dias, valor esse similar ao obtido no presente trabalho. Frente a isso, podemos inferir que a exposição à papaína não altera o período de desenvolvimento ovo-adulto drasticamente em *P. elaeisis*.

O número de descendentes também não foi afetado para exposição a papaína antes e após o parasitismo. Ao compararmos com estudo feito por Zanuncio et al. (2008), observa-se proximidade nos resultados, visto que o número de indivíduos produzidos por pupa de *T. molitor* foi de $70,07 \pm 2,50$. A razão sexual, antes e após o parasitismo também não sofreu alteração. Relatos mostram que os valores de razão sexual encontrados para *P. elaeisis* são geralmente mais elevados em *T. molitor* (0,94) (Zanuncio et al., 2008). Desse modo, observamos que a papaína não altera a progênie e a razão sexual dos descendentes de *P. elaeisis* expostos à essa enzima.

Em relação a longevidade das fêmeas de *P. elaeisis* foram obtidos valores menores, de 15,68 dias para o tratamento controle e 17,08 dias para os insetos expostos à papaína, em relação a outros trabalhos. Em estudo realizado por Martins et al. (2019), a longevidade de fêmeas ($p = 0,1504$; $F = 1,7015$ $df = 5$) de *P. elaeisis* foi superior a 30 dias para todos os tratamentos. Valores inferiores a esse (22,65 dias para fêmeas) foram encontrados para *P. elaeisis* em pupas de *T. molitor* com uma densidade menor (4:1) de parasitoides por pupa (Zanuncio et al., 2008). A longevidade consideravelmente inferior em nosso experimento pode estar relacionada a diversos fatores como variação de temperatura, baixa umidade, falta de variabilidade genética, entre outros.

Nossos resultados indicam que a papaína apresenta alto potencial para uso como biopesticida, sendo uma estratégia mais sustentável. A enzima não prejudica o desempenho do parasitoide, independente do momento de contato, visto que os parâmetros mensurados se encontram dentro de valores esperados, garantindo compatibilidade com o agente biológico e seu potencial uso no controle de pragas. Entretanto, ainda são necessários mais estudos para comprovar que essa enzima não apresenta efeito adverso sobre outros agentes de controle biológico e culturas.

6 CONCLUSÃO

A exposição das pupas de *T. molitor* à papaína não afetou negativamente o parasitismo, desenvolvimento, longevidade e razão sexual de *P. elaeisis*, independente do momento da exposição.

REFERÊNCIAS

ALECIO, M. Robert; DANN, Malcolm L.; LOWE, Gordon. The specificity of the S1' subsite of papain. **Biochemical Journal**, v. 141, n. 2, p. 495-501, 1974.

ANDRADE, G. S. et al. Immunity of an alternative host can be overcome by higher densities of its parasitoids *Palmistichus elaeisis* and *Trichospilus diatraeae*. **PLoS ONE**, v. 5, n. 10, 2010.

ANGON, P. B. et al. **Integrated Pest Management (IPM) in Agriculture and Its Role in Maintaining Ecological Balance and Biodiversity**. **Advances in Agriculture**. Hindawi Limited, 2023.

ASKARY, T. H. et al. Prospects of biopesticides in pest management. **Nova Science Publishers: New York, NY, USA**, p. 149-172, 2022.

BARBOSA, R. et al. Foraging Activity of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) at Various Densities on Pupae of the Eucalyptus Defoliator *Thyrintina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae). **Florida Entomologist**, v. 99, n. 4, p. 686–690, 1 dez. 2016.

BATOOL, M. et al. Nanoencapsulation of cysteine protease for the management of stored grain pest, *Sitotroga cerealella* (Olivier). **Journal of King Saud University - Science**, v. 33, n. 4, 1 jun. 2021.

BELSHAW, Robert; GRAFEN, Alan; QUICKE, Donald LJ. Inferring life history from ovipositor morphology in parasitoid wasps using phylogenetic regression and discriminant analysis. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 139, n. 2, p. 213-228, 2003.

BITTENCOURT, Maria AL; BERTI FILHO, Evoneo. Desenvolvimento dos estágios imaturos de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera, Eulophidae) em pupas de Lepidoptera. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 48, p. 65-68, 2004.

CASTRO, H. L. B. et al. Nematicidal and Insecticidal Activity of Proteases from *Carica papaya* and *Ananas comosus*. **Agriculture (Switzerland)**, v. 13, n. 6, 1 jun. 2023.

CASTRO, H. L. B.; BRAGA, F. R.; SOARES, F. E. DE F. Potential of plant cysteine proteases against crop pests and animal parasites. **Journal of Natural Pesticide Research**, v. 6, 1 dez. 2023.

CEPEA. **PIB do agronegócio brasileiro**. Disponível em: <https://www.cepea.esalq.usp.br/br/pib-do-agronegocio-brasileiro.aspx?utm_source&#:~:text=Apesar%20disso%2C%20considerando%2Dse%20o,pre%20C3%A7os%20em%20todos%20os%20segmentos.>. Acesso em: 21 jul. 2024.

CHICHERA, R. et al. Capacidade de busca e reprodução de *Trichospilus diatraeae* e *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Interciencia**, v. 37, p. 852–856, 2012.

DARA, S. K. The New Integrated Pest Management Paradigm for the Modern Age. **Journal of Integrated Pest Management**, v. 10, n. 1, 1 jan. 2019.

DOMINGUES, L. F. et al. In vitro activity of pineapple extracts (*Ananas comosus*, Bromeliaceae) on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Experimental Parasitology**, v. 134, n. 3, p. 400–404, jul. 2013a.

DOMINGUES, L. F. et al. In vitro and in vivo evaluation of the activity of pineapple (*Ananas comosus*) on *Haemonchus contortus* in Santa Inês sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 197, n. 1–2, p. 263–270, 18 out. 2013b.

EHLER, Lester E. Integrated pest management (IPM): definition, historical development and implementation, and the other IPM. **Pest management science**, v. 62, n. 9, p. 787-789, 2006.

FERNÁNDEZ-LUCAS, Jesús; CASTAÑEDA, Daniel; HORMIGO, Daniel. New trends for a classical enzyme: Papain, a biotechnological success story in the food industry. **Trends in Food Science & Technology**, v. 68, p. 91-101, 2017.

FILHO, E.; MACEDO, L. **Controle biológico de insetos-praga**. Primeira edição ed. Natal-RN: IFRN Editora, 2011.

FINEGOLD, C.; RIED, J.; DENBY, K.; GURR, S. **Global burden of crop loss** (Fardo global da perda de safras). *Gates Open Res.* 2019, 3.

FONTES, E.; PIRES, C.; SUJII, E. Estratégias de uso e histórico . Em: FONTES, E.; VALADARES-INGLIS, M. (Eds.). **Controle Biológico de Pragas da Agricultura**. Primeira edição ed. Brasília, DF: Embrapa, 2020. v. 1p. 21–40.

HARRISON, R. L.; BONNING, B. C. Proteases as insecticidal agents. **Toxins**, maio 2010.

KAMPHUIS, I. G. et al. Structure of papain refined at 1.65 Å resolution. **Journal of molecular biology**, v. 179, n. 2, p. 233-256, 1984.

KONNO, K. et al. Papain protects papaya trees from herbivorous insects: Role of cysteine proteases in latex. **Plant Journal**, v. 37, n. 3, p. 370–378, fev. 2004.

KOVENDAN, K. et al. Bioefficacy of larvicidal and pupicidal properties of *Carica papaya* (Caricaceae) leaf extract and bacterial insecticide, spinosad, against chikungunya vector, *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research**, v. 110, n. 2, p. 669–678, fev. 2012.

LAUMANN, R.; SAMPAIO, M. Controle de artrópodes-praga com parasitoides. Em: FONTES, E.; VALADARES-INGLIS, M. (Eds.). **Controle Biológico de Pragas da Agricultura**. Primeira edição ed. Brasília, DF: Embrapa, 2020. v. 1p. 65–106.

- MADEJ, T. et al. MMDB: 3D structures and macromolecular interactions. **Nucleic Acids Research**, v. 40, n. D1, jan. 2012.
- MAMBOYA, Ezekiel Amriand Florence; AMRI, E. Papain, a plant enzyme of biological importance: A review. **Am. J. Biochem. Biotechnol**, v. 8, n. 2, p. 99-104, 2012.
- MARTINS, D. J. et al. *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) rearing in *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) submitted to different diets*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 87, 2019.
- MIRANDA, J. **Manejo integradode pragas do algodoeiro no cerrado brasileiro**. 2010.
- MITCHEL, R. E. J.; CHAIKEN, I. M.; SMITH, E. L. The Complete Amino Acid Sequence of Papain. **Journal of Biological Chemistry**, v. 245, n. 14, p. 3485–3492, jul. 1970.
- MOURA, A. et al. Manejo integrado de pragas do tomateiro para processamento industrial. 2014.
- OLIVEIRA, H.; ÁVILA, C. Controle biológico de pragas no Centro-Oeste brasileiro. 2010.
- PARRA, J. et al. Controle Biológico: Terminologia. Em: PARRA, J. et al. (Eds.). **Comtrole Biológico no Brasil: Parasitoides e Predadores**. Primeira edição ed. [s.l.] Manole, 2002. p. 1–16.
- PEACHEY, L. E. et al. Papaya latex supernatant has a potent effect on the free-living stages of equid cyathostomins in vitro. **Veterinary Parasitology**, v. 228, p. 23–29, 15 set. 2016.
- PEREIRA, F. F. et al. New record of *Trichospilus diatraeae* as a parasitoid of the eucalypt defoliator *Thyrintaina arnobia* in Brazil. **Phytoparasitica**, v. 36, p. 304-306, 2008.
- PEREIRA, F. F. et al. The density of females of *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). v. 82, n. 2, p. 323–331, 2010a.
- PEREIRA, F. F. et al. Reproductive biology of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) with alternative and natural hosts. **Zoologia**, v. 27, n. 6, p. 887–891, 2010b.
- PEREIRA, F. F. et al. Biological characteristics of *Palmistichus elaeisis* Delvare & Lasalle (hymenoptera: Eulophidae) on refrigerated pupae of *Anticarsia gemmatalis* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae). **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 73, n. 2, p. 117–121, jun. 2013.
- PICANÇO, Marcelo Coutinho; GONRING, A. H. R.; OLIVEIRA, IR de. Manejo integrado de pragas. **Viçosa, MG: UFV**, 2010.
- RAWLINGS, N. D.; BARRETT, A. J.; BATEMAN, A. MEROPS: The peptidase database. **Nucleic Acids Research**, v. 38, n. SUPPL.1, 5 nov. 2009.

RAWLINGS, N. D.; BARRETT, A. J.; BATEMAN, A. Asparagine peptide lyases: A seventh catalytic type of proteolytic enzymes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 286, n. 44, p. 38321–38328, 4 nov. 2011.

ROLIM, S. et al. Side effects of *Bacillus thuringiensis* on the parasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 189, 1 fev. 2020.

SALVADORI, J.; TONET, G. **Manejo integrado dos pulgões de trigo**. Primeira edição ed. Passo Fundo-RS: Embrapa, 2001.

SUJII, E. et al. Relações ecológicas no controle biológico. Em: FONTES, E.; VALADARES-INGLIS, M. (Eds.). **Controle Biológico de Pragas da Agricultura**. Primeira edição ed. Brasília, DF: Embrapa, 2020. v. 1p. 45–62.

TAVARES, W. et al. Emergence of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) from pupae of *Thagana tibialis* (Lepidoptera: Lymantriidae) collected in the medicinal plant *Terminalia catappa* (Combretaceae). **Entomological News**, v. 122, n. 3, p. 250–256, maio 2012.

TAVARES, W. DE S. et al. Emergence of *Palmistichus elaeisis* Delvare & laSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) from Pupae of *Heraclides anchisiades capys* (Hübner, [1809]) (Lepidoptera: Papilionidae) in the Laboratory. **Folia Biologica (Poland)**, v. 61, n. 3–4, p. 233–237, 2013a.

TAVARES, W. S. et al. Parasitism of *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle, 1993 on pupae of *Methona themisto* (Hübner, [1818]) reared on two hosts (Lepidoptera: Nymphalidae; Hymenoptera: Eulophidae). **SHILAP Revista de Lepidopterología**, v. 41, p. 43–48, 2013b.

TINOCO, T.; SILVA, P.; ROCHA, A. Manejo integrado de pragas e doenças em sistemas agrícolas. **Revista Contemporânea**, v. 3, n. 11, p. 22675–22697, 21 nov. 2023.

TREMACOLDI, C. **Proteases e Inibidores de Proteases na Defesa de Plantas Contra Pragas**. Primeira edição ed. Belém-PA: Embrapa, 2009.

TSUGE, Hideaki et al. Inhibition mechanism of cathepsin L-specific inhibitors based on the crystal structure of papain–CLIK148 complex. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 266, n. 2, p. 411–416, 1999.

WIJANARKO, A. et al. Production of a biopesticide based on a cysteine protease enzyme from latex and papaya (*Carica papaya*) for *Spodoptera litura* in red chili peppers (*Capsicum annuum*). **International Journal of Technology**, v. 8, n. 8, p. 1455–1461, 27 dez. 2017.

ZACHÉ, B.; ZACHÉ, R. R. DA C.; WILCKEN, C. F. Evaluation of *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) as Parasitoid of the *Sarsina violascens* Herrich-Schaeffer (Lepidoptera: Lymantriidae). **Journal of Plant Studies**, v. 1, n. 1, 27 fev. 2012.

ZACHÉ, Bruno et al. *Musca domestica* como huésped para la cría masiva del parasitoide *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). **Agrociencia (Uruguay)**, v. 17, n. 1, p. 98-100, 2013.

ZANUNCIO, J. et al. *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae), a new alternative host to rear the pupae parasitoid *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae). **Coleopterists Bulletin**, v. 62, n. 1, p. 64–66, mar. 2008.

ZANUNCIO, J. C. et al. *Psorocampa denticulata* (Lepidoptera: Notodontidae) Pupae as an Alternative Host for *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). **Florida Entomologist**, v. 98, n. 3, p. 1003–1005, 1 set. 2015.