

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS (UFGD)
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA E
CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE

MULTIPLICAÇÃO DE *Tetrastichus howardi* (HYMENOPTERA:
EULOPHIDAE) EM PUPAS DE *Tenebrio molitor*
(COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE) E DE *Diatraea saccharalis*
(LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

FABIANA GARCIA DE OLIVEIRA

DOURADOS-MS
(MARÇO/2013)

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS (UFGD)
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA E
CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE

MULTIPLICAÇÃO DE *Tetrastichus howardi* (HYMENOPTERA:
EULOPHIDAE) EM PUPAS DE *Tenebrio molitor*
(COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE) E DE *Diatraea saccharalis*
(LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

FABIANA GARCIA DE OLIVEIRA

Orientador: Prof. Dr. Fabricio Fagundes Pereira

Co-orientador: Prof. Dr. Patrik Luiz Pastori

DOURADOS-MS
(MARÇO/2013)

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS (UFGD)
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA E
CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE

MULTIPLICAÇÃO DE *Tetrastichus howardi* (HYMENOPTERA:
EULOPHIDAE) EM PUPAS DE *Tenebrio molitor*
(COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE) E DE *Diatraea saccharalis*
(LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

FABIANA GARCIA DE OLIVEIRA

Orientador: Prof. Dr. Fabricio Fagundes Pereira

Co-orientador: Prof. Dr. Patrik Luiz Pastori

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Entomologia e Conservação da Biodiversidade.

DOURADOS-MS
(MARÇO/2013)

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central - UFGD

595.7
O482m Oliveira, Fabiana Garcia.
Multiplicação de *Tetrastichus howardi*
(Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Tenebrio
molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) e de *Diatraea
saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) / Fabiana Garcia
de Oliveira. – Dourados, MS : UFGD, 2013.
63 f.

Orientador: Prof. Dr. Fabricio Fagundes Pereira.
Dissertação (Mestrado em Entomologia e
Conservação da Biodiversidade) – Universidade
Federal da Grande Dourados.

1. *Tetrastichus howardi*. 2. Entomologia. I. Título.

A Deus,
tudo na minha vida.

A Nossa Senhora de Aparecida,
por me abençoar em todos os momentos.

Aos meus pais Joaquim (*in memoriam*) e Leonilda,
pela dedicação, incentivo e orações.

À minha amada família, Glória, Sueli e Bruna
por todo amor, apoio e confiança.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal da Grande Dourados, pelas instalações e toda infraestrutura cedida para a realização deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade da Universidade Federal da Grande Dourados, pela oportunidade de realização do curso de Mestrado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão de bolsa de estudo.

Ao Prof. Dr. Fabricio Fagundes Pereira, pelos valiosos ensinamentos, por sua paciência e exemplo profissional, pela dedicação e entusiasmo na orientação dos experimentos, além da amizade.

Ao Prof. Dr. Patrik Luiz Pastori, pelos preciosos ensinamentos, pela disponibilidade e atenção.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia pelos ensinamentos transmitidos.

Ao secretário de Pós-Graduação Manfredo Rode Junior pela atenção e serviços prestados.

Aos colegas do Mestrado em Entomologia, pela convivência.

Às amigas, Elizangela Leite Vargas, Cácia Leila Tigre Viana, Vanessa Rodrigues Calado, Daniele Fabiana Glaeser, Bruna Aparecida Cáceres e Rosalia Azambuja pela companhia, pelos conhecimentos compartilhados, pela confiança e amizade verdadeira.

Aos amigos, Ivan Vaz Sanches, Lucas Martinho, Alessandra Frequetia e Jéssica Lucchetta pela companhia, amizade, incentivo e pelos conhecimentos compartilhados.

Aos demais membros da equipe do Laboratório de Entomologia/Controle Biológico (LECOBIOL), Daniele Perassa, Camila Rossoni, Samir Oliveira Kassab, Rogerio Hidalgo, Elisson Floriano Tiago pela companhia.

Aos amigos, Lidiani Zacarias, Evandro Puhl de Melo, Marcela Botassini, Franciele Marques Machado, Aline Reolon, Paulo Henrique Ramos Fernandes e Maria

Madalena Ávila Jardim pelas conversas, pelo carinho, incentivo, colaboração e amizade.

Aos amigos Roberto Ajul Rezende e Carlos Eduardo Cordeiro, que apesar da distância, sempre me incentivaram e transmitiram palavras de carinho, confiança e amizade sincera.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, minha infinita gratidão.

CONTEÚDO

| | |
|--|----|
| RESUMO GERAL..... | xi |
| ABSTRACT..... | xi |
| INTRODUÇÃO..... | 1 |
| OBJETIVOS..... | 4 |
| REFERÊNCIAS..... | 5 |
| | |
| Reprodução de <i>Tetrastichus howardi</i> (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de <i>Tenebrio molitor</i> (Coleoptera: Tenebrionidae) em função da densidade do parasitoide..... | 8 |
| Resumo..... | 9 |
| Abstract..... | 9 |
| Introdução..... | 10 |
| Material e Métodos..... | 11 |
| Resultados..... | 13 |
| Discussão..... | 14 |
| Conclusões..... | 16 |
| Agradecimentos..... | 16 |
| Referências..... | 17 |
| | |
| Influência da idade de pupas de <i>Tenebrio molitor</i> (Coleoptera: Tenebrionidae) na progênie de <i>Tetrastichus howardi</i> (Hymenoptera: Eulophidae)..... | 28 |
| Resumo..... | 29 |
| Abstract..... | 29 |
| Introdução..... | 31 |
| Material e Métodos..... | 32 |
| Resultados..... | 34 |
| Discussão..... | 34 |
| Conclusões..... | 36 |

| | |
|--|----|
| Agradecimentos..... | 36 |
| Referências..... | 37 |
| | |
| Desempenho reprodutivo de <i>Tetrastichus howardi</i> (Hymenoptera: Eulophidae) no hospedeiro natural <i>Diatraea saccharalis</i> (Lepidoptera: Pyralidae) após três gerações em hospedeiro alternativo <i>Tenebrio molitor</i> (Coleoptera: Tenebrionidae)..... | 42 |
| Resumo..... | 43 |
| Abstract..... | 43 |
| Introdução..... | 44 |
| Material e Métodos..... | 45 |
| Resultados..... | 47 |
| Discussão..... | 47 |
| Conclusões..... | 49 |
| Agradecimentos..... | 49 |
| Referências..... | 50 |
| Conclusões Gerais..... | 53 |

RESUMO GERAL

Tetrastichus howardi Olliff, 1893 (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide pupal e larval, gregário e cosmopolita, principalmente de espécies de Lepidoptera que vem sendo estudado como agente potencial de controle biológico. O objetivo geral foi obter informações sobre a biologia e criação de *T. howardi* em pupa do hospedeiro alternativo *Tenebrio molitor* (Linnaeus, 1758) (Coleptera: Tenebrionidae) visando sua multiplicação em grande escala para ser utilizado em programas de controle biológico, especialmente para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). Para isso, os seguintes trabalhos foram desenvolvidos no Laboratório de Entomologia/Controle Biológico (LECOBIOL) da Faculdade de Ciências Agrárias, da Universidade Federal da Grande Dourados, em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. Reprodução de *T. howardi* em pupas de *T. molitor* em função da densidade do parasitoide. Neste trabalho, fêmeas de *T. howardi* foram expostas ao parasitismo de pupas de *T. molitor*, nas densidades 1:1, 7:1, 14:1, 21:1, 28:1 e 32:1, parasitoide-hospedeiro, respectivamente. As densidades de 7, 14 e 21 fêmeas de *T. howardi* por pupa de *T. molitor* foram as mais adequadas para a criação desse parasitoide. Influência da idade de pupas de *T. molitor* na progênie de *T. howardi*. Para tanto, fêmeas de *T. howardi*, nas densidades de 7:1, parasitoide, hospedeiro, respectivamente, foram expostas ao parasitismo de pupas de *T. molitor*, nas idades de 12, 24, 48, 72, 96 e 120 horas. A idade de 24 horas foi a mais adequada para a criação de *T. howardi*. Desempenho reprodutivo de *T. howardi* no hospedeiro natural *D. saccharalis* após três gerações em hospedeiro alternativo *T. molitor*. Para a realização desse trabalho, dois grupos de *T. howardi* foram multiplicados, separadamente, por três gerações, um grupo no hospedeiro alternativo *T. molitor* e o outro no hospedeiro natural *D. saccharalis*. Na seqüência, 50 pupas de *D. saccharalis* foram expostas por 72 horas ao parasitismo de fêmeas de *T. howardi*, criado anteriormente em pupas de *T. molitor* e de *D. saccharalis*. A criação sucessiva por três gerações de *T. howardi* no hospedeiro alternativo não afetou o número de pupas parasitadas e de pupas com emergência de parasitoides no hospedeiro natural *D. saccharalis* e contribuiu para o aumento de progênie por pupa, com indivíduos maiores e maior longevidade de fêmeas e de machos. A razão sexual encontrada foi a mesma nas duas condições testadas. Concluiu-se, de maneira geral que *T. howardi* pode ser criado no hospedeiro alternativo *T. molitor* por três gerações, sem comprometer seu desempenho reprodutivo no hospedeiro natural *D. saccharalis*.

ABSTRACT

Tetrastichus howardi (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) is a pupal and larval endoparasitoid, gregarious and cosmopolitan, mainly of Lepidoptera species that has been studied as a potential biological control agent. The objective was to obtain information about the biology and rearing of *T. howardi* pupa in the alternative host *Tenebrio molitor* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Tenebrionidae) aimed at multiplying its mass scale to be used in biological control programs, especially for control of *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). For this, the following works have been developed in the Laboratory of Entomology / Biological Control (LECOBIOL), Faculty of Agricultural Sciences, Federal University of Grande Dourados in Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil. In the first study "Reproduction of *T. howardi* in pupae of *T. molitor* depending on the density of the parasitoid". Female *T. howardi* were exposed to parasitism of pupae of *T. molitor* at densities 1:1, 7:1, 14:1, 21:1, 28:1 and 32:1, parasitoid-host, respectively. The densities of 7, 14 and 21 females of *T. howardi* by pupae of *T. molitor* were the most suitable for the creation of this parasitoid. Influence of age of pupae *T. molitor* progeny of *T. howardi*. Therefore, females of *T. howardi* at densities of 7:1, parasitoid host, respectively, were exposed to parasitism of pupae of *T. molitor*, at ages 12, 24, 48, 72, 96 and 120 hours. The age of 24 hours was more appropriate for rearing of *T. howardi*. Reproductive performance of *T. howardi* in the natural host *D. saccharalis* after three generations in alternative host *T. molitor*. To conduct this study, two groups of *T. howardi* were multiplied separately by three generations, a group on alternative host *T. molitor* and the other in the natural host *D. saccharalis*. Subsequently, 50 pupae of *D. saccharalis* were exposed for 72 hours to parasitism of females of *T. howardi*, rearing earlier in pupae of *T. molitor* and *D. saccharalis*. The rearing of three successive generations of *T. howardi* in alternative host did not affect the number of parasitized pupae and pupal parasitoids emergence of the natural host *D. saccharalis* and contributed to the increase of progeny per pupa, with larger longevity of females and males. The sex ratio found was the same in both conditions tested. It was concluded that in general *T. howardi* can be rearing in alternative host *T. molitor* for three generations, without compromising their reproductive performance in natural host *D. saccharalis*.

INTRODUÇÃO

A cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) é de grande importância econômica para muitos países, especialmente para o Brasil. Segundo estimativa da CONAB (2012), a produção nacional para a safra 2012/2013 será de 596,63 milhões de toneladas, ocupando uma área total de 8,53 milhões de hectares, sendo que a maior concentração dessa cultura está em São Paulo com 4,42 milhões de hectares. Além disso, Mato Grosso do Sul é o quinto maior produtor de cana-de-açúcar do Brasil com 554,29 mil hectares.

Esta cultura tem proporcionado boas características agronômicas após vários programas de melhoramento genético, no entanto, defronta-se com uma série de problemas fitossanitários, incluindo a incidência de pragas e doenças (VACARI et al., 2012). Devido às extensas áreas contínuas cultivadas com cana-de-açúcar, esse agroecossistema se torna propício ao ataque de diversos artrópodes-praga (NAVA et al., 2009). Entre as pragas, destaca-se a broca-da-cana *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). Na prática, o uso de inseticidas sintéticos demanda alto custo para o controle de *D. saccharalis*, além de causar impactos ambientais e apresentar dificuldade ao acesso ao produto devido a localização do inseto (BOTELHO, 1992).

A fêmea de *D. saccharalis* faz a postura usualmente na face dorsal da folha da cana e, após quatro a oito dias, eclodem as lagartas, que inicialmente se alimentam do parênquima das folhas e depois da primeira ecdise penetram no colmo abrindo galerias no seu interior (GALLO et al., 2002; MACEDO et al., 2010). As lagartas quando atacam as plantas novas, causam o “coração morto”, nas plantas adultas, causam redução do peso e conseqüente redução na produção de açúcar e/ou etanol, brotação lateral, quebra e atrofiamento de entrenós (MACEDO et al., 2010).

A cana-de-açúcar é uma cultura de ciclo longo que permite o desenvolvimento de várias gerações da broca-da-cana (BOTELHO, 1985). Desse modo, considera-se necessário, para aumentar a eficiência do controle biológico dessa praga, a avaliação do potencial de outras espécies parasitoides.

Inimigos naturais, tais como parasitoides, predadores e entomopatógenos são importantes para o controle natural da broca-da-cana. O controle biológico de *D.*

saccharalis utilizando o parasitoide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) tem apresentado vantagens (SIQUEIRA et al., 2012) e o uso do parasitoide larval *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) é considerado um dos mais bem sucedidos programas de controle biológico do mundo (BOTELHO e MACEDO, 2002). Muitas pesquisas também têm sido feitas com o parasitoide pupal *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) para o controle de pupas de *D. saccharalis* (FÁVERO, 2009; GRANCE, 2010; RODRIGUES et al., 2013; GLAESER, 2011).

O gênero *Tetrastichus* é considerado um dos maiores da subfamília Tetrastichinae e ocorre em todos os continentes (GRAHAM, 1991; LA SALE e POLASZEK, 2007). *Tetrastichus howardi* Olliff, 1893 (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide pupal e larval, gregário e cosmopolita, pois está distribuído no Paquistão, Taiwan, oeste da Austrália, África e América do Sul (KARINDAH et al., 2005; GRANCE et al., 2011; CRUZ et al., 2011; BOUCEK, 1988; KFIR et al., 1993). Há relatos desse parasitoide em diversas espécies de lepidópteros das famílias Crambidae, Plutellidae, Pyralidae e Noctuidae; Coleópteros da família Tenebrionidae (KFIR, 1997; CHAO-DONG e DA-WEI, 2001).

Tetrastichus howardi é identificado por duas características: uma seta dorsal na veia submarginal e uma carena em forma de “Y” invertido no propódeo. Os adultos de *T. howardi* apresentam coloração preta, com brilho metálico. Nas antenas das fêmeas, o escapo é claro, em contraste com o pedicelo, funículo e clava escuros. Já nos machos as antenas apresentam escapo, pedicelo e funículo claros (KFIR et al., 1993).

As fêmeas desse parasitoide se reproduzem por partenogênese, do tipo arrenótoca, ou seja, o óvulo se desenvolve sem ter sido fecundado pelo gameta masculino, nesse caso dando origem apenas a descendentes machos (KFIR et al., 1993). Após a introdução dos ovos pela fêmea de *T. howardi* no hospedeiro, o parasitoide passa por três estágios larvais, sucessivamente o estágio de pupa e, finalmente, os adultos emergem, prosseguindo o desenvolvimento durante 14 à 16 dias, aproximadamente, à 25°C (GONZÁLEZ, 2004).

O parasitoide *T. howardi* foi registrado em larvas e pupas de *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) na cultura do repolho, obtendo resultados

satisfatórios, atingindo 82% de parasitismo em larvas (KARINDAH et al., 2005). A interação de *T. howardi* com o parasitoide *Lixophaga diatraeae* (Townsend 1916) (Diptera: Tachinidae), obteve 15,93% de parasitismo em *D. saccharalis* por *T. howardi* e 29,05% por *L. diatraeae*, na interação entre os parasitoides registrou-se 35,85% de parasitismo (FELIX et al., 2005). Foram realizados estudos biológicos e ecológicos de *T. howardi* no hospedeiro alternativo *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae), obtendo-se 30% de parasitismo e 80 % de emergência que demonstrando que pupas do hospedeiro são adequadas para criações do parasitoide (GONZÁLEZ, 2004).

O parasitoide *T. howardi* foi estudado como agente potencial de controle biológico de *D. saccharalis* para a cultura da cana-de-açúcar em Cuba (GONZÁLEZ, 2004). No Brasil, foi coletada uma pupa de *D. saccharalis* parasitada por *T. howardi* em plantio de cana-de-açúcar no município de Dourados, Mato Grosso do Sul (GRANCE et al., 2011). Esse fato estimulou os estudos visando a incorporação de *T. howardi* no programa de controle biológico de *D. saccharalis* já utilizado na cana-de-açúcar.

Existem perguntas que precisam de respostas para se avaliar o potencial desse parasitoide como agente de controle biológico. A primeira questão trata-se de sua multiplicação em laboratório com facilidade e baixo custo utilizando um hospedeiro alternativo adequado. Testes preliminares realizados no Laboratório de Entomologia/Controle Biológico da Universidade Federal da Grande Dourados mostraram que pupas de *Tenebrio molitor* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Tenebrionidae) foram parasitadas por *T. howardi*, o que motivou o desenvolvimento desse trabalho.

Estudos para o aprimoramento e desenvolvimento de técnicas adequadas para criações de *T. howardi* visando sua utilização em programas de Controle Biológico são necessárias e algumas informações sobre as características biológicas e comportamentais de *T. howardi* precisam ser conhecidas, o que justifica essas pesquisas. Tais características se referem a avaliação da idade ideal da pupa do hospedeiro alternativo *T. molitor*, do efeito da densidade na capacidade reprodutiva de *T. howardi*, e do desempenho reprodutivo de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis*, após criado por três gerações no hospedeiro alternativo *T. molitor*.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

O objetivo desse trabalho foi avaliar algumas características biológicas e a multiplicação do parasitoide *T. howardi* em pupas do hospedeiro alternativo *T. molitor* visando sua utilização em programas de controle biológico, especialmente de *D. saccharalis*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar se o número de fêmeas de *T. howardi* disponibilizados por pupa de *T. molitor* influencia sua capacidade de se reproduzir nesses hospedeiros.
- Determinar se a idade das pupas do hospedeiro *T. molitor* influencia na progênie de *T. howardi*;
- Averiguar o desempenho reprodutivo de *T. howardi* no hospedeiro natural *D. saccharalis* após ser criado por três gerações no hospedeiro alternativo *T. molitor*.

Esta dissertação está de acordo com as “Normas para Redação de Dissertações e Teses” da Universidade Federal da Grande Dourados.

REFERÊNCIAS

- BOTELHO, P. S. M. **Tabela de vida ecológica e simulação da fase larval de *Diatraea saccharalis* (Fabricius 1794) (Lepidoptera: Pyralidae)**. 1985. 110 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- BOTELHO, P. S. M. Quinze anos de Controle Biológico da *Diatraea saccharalis* utilizando parasitoides. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.27, s/n, p. 255-262, 1992.
- BOTELHO, P.S.M.; MACEDO, N. *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*, p.412. In: PARRA, et al. (eds.), **Controle biológico no Brasil**. Sao Paulo: Manole, 2002.
- CHAO-DONG, Z.; DA-WEI, H. A Taxonomic Study on Eulophidae from Zhejiang, China (HYMENOPTERA: CHALCIDOIDEA). **Acta Zootaxonomica Sinica**, v. 26, n.4, p. 533-547, 2001.
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira: Cana-de-açúcar: safra 2012/2013: Segundo Levantamento** (Agosto/2012). Brasília, 2012. Disponível em:
http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_08_09_15_07_05_boletim_cana_portugues_-_agosto_2012_2o_lev.pdf
 Acesso em: 28 out. 2012.
- CRUZ, I. ; REDOAN, A.C.; SILVA, R.B.; FIGUEIREDO, M.L.C.; PENTEADO-DIAS, A.M. New record of *Tetrastichus howardi* (Olliff) as a parasitoid of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) on maize. **Scientia Agricola**, v.68, n.2, p. 252-254, 2011.
- FÁVERO, K. **Biologia e Técnicas de Criação de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) e *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)**. 63p. Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS. 2009.
- FELIX, J; GONZALEZ, A; MONTES DE OCA, F.N.; RAVELO, H.G.; BAITHA, A. Interaction of *Lixophaga diatraeae* (Townsend) and *Tetrastichus howardi* (Olliff) for Management of *Diatraea saccharalis* (Fab.) in Cuba. **Sugar Tech** v.7, n. 3, p. 5-8, 2005.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. 2002. **Entomologia Agrícola**. FEALQ. Piracicaba, 920p. 2002.

GLAESER, D. F. **Características Biológicas e Comportamentais de *Trichospilus diatraeae* (hymenoptera: eulophidae) criado em pupa de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)**. Dourados, MS. UFGD. 2011. Tese (Doutorado em Agronomia – Produção Vegetal) - Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD. Dourados, MS. 2011.

GONZÁLEZ, J. F. Á. **Estudios bioecológicos, reproducción artificial y liberación de *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoide pupal de *Diatraea saccharalis* (Fab.) en Cuba**. Tesis para aspirar al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar Universidad Central de Las Villas. Santa Clara. 2004.

GRAHAM, M. W. R. de V.. A reclassification of the European Tetrastichinae (Hymenoptera: Eulophidae): revision of the remaining genera. **Memoirs of the American Entomological Institute**. v.49, n. 10, p.1-322, 1991.

GRANCE, E. L. V.; PEREIRA, F. F. ; TAVARES, M. T. ; PASTORI, P. L. . Record of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Diatraea* sp. (Lepidoptera: Crambidae) in sugarcane crop in Brazil. **Entomotropica**. v. 26, n. 3, p. 143 - 146. 2011.

GRANCE, E. L. V.; **Potencial de *Trichospilus Diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) para o Controle de *Diatraea saccharalis* (lepidoptera: crambidae) em cana-de-açúcar**. 53p. Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS. 2010.

KARINDAH, S.; SUTANTO, E.; SISWANTO DAN, L.; SULISTYOWATI. Parasitoid Larva-Pupa *Tetrastichus howardi* (Hymenoptra: Eulopidae) pada *Pluttela xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae) di Pertanaman Kubis Kecamatan Batu dan Poncokusumo, Kabupaten Malang. **Jurnal Entomologi Indonesia**, v.1, n.2, p. 61-68, 2005.

KFIR, R.; GOUWS J.; MOORE, S.D. Biology of *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae): A Facultative hyperparasitoid of stem borers. **Biocontrol Science and Technology**. v. 3, n. 1, p.149-159, 1993.

KFIR, R. Parasitoids of *Plutella xylostella* (Lep.: Plutellidae) in South Africa: Anannotated list. **Entomophaga** v. 42, n. 4, p.517-523, 1997.

LA SALLE, J.; POLASZEK A. 2007. Afrotropical species of the *Tetrastichus howardi* species group (Hymenoptera: Eulophidae). **African Entomology**, v. 15, n. 1, p. 45-56, 2007.

MACEDO N, MACEDO D, CAMPOS MBS, NOVARETTI WRT AND FERRAZ LCCB. Manejo de pragas e nematóides. In: Santos F, Borém A, Caldas C (Eds), **Cana-**

de-açúcar: bioenergia, açúcar e álcool – Tecnologias e Perspectivas, Viçosa: Suprema Gráfica e Editora Ltda. v.1, p. 119–159, 2010.

NAVA, D. E.; PINTO, A. S.; SILVA, S. D. A. **Controle Biológico da Broca da Cana-de-açúcar**. EMBRAPA Clima Temperado. Pelotas, RS, 2009.

RODRIGUES, M. A. T. ; PEREIRA, F. F. ; KASSAB, S. O. ; PASTORI, P. L. ; GLAESER, D. F. ; OLIVEIRA, H. N. ; ZANUNCIO, J. C. ; ZANUNCIO, J. C. . Thermal requirements and generation estimates of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) in sugarcane producing regions of Brazil. **The Florida Entomologist**, v. 96, p. 154-159, 2013.

SIQUEIRA, J. R.; BUENO, R.C.O.F.; BUENO, A. F.; VIEIRA, S.S. Preferência hospedeira do parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum*. **Ciência Rural**, v.42, n.1, p. 1-5, 2012.

VACARI, A. M.; GENOVEZ, G. S.; LAURENTIS, V. L.; BORTOLI, S. A. Fonte proteica na criação de *Diatraea saccharalis* e seu reflexo na produção e no controle de qualidade de *Cotesia flavipes*. **Bragantia**, v.71, n. 3, p. 30-37, 2012.

CAPÍTULO I

Reprodução de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) em função da densidade do parasitoide

Reprodução de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) em função da densidade do parasitoide

Resumo: *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) é um possível agente potencial de controle biológico para a cultura da cana-de-açúcar no Brasil, portanto pesquisas são necessárias para sua multiplicação em laboratório. O objetivo desse trabalho foi verificar se a densidade de fêmeas influencia a capacidade reprodutiva de *T. howardi* criado em pupa de *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae). Para isso, fêmeas de *T. howardi* foram expostas ao parasitismo de pupas de *T. molitor*, nas densidades 1:1, 7:1, 14:1, 21:1, 28:1 e 32:1, parasitoide-hospedeiro, respectivamente. A porcentagem de parasitismo de *T. howardi* sobre pupas de *T. molitor* foi de $70,0 \pm 5,37$; $92,0 \pm 3,27$, $96,0 \pm 2,67$ e $98,0 \pm 2,00\%$ para as densidades de 1:1, 7:1, 14:1, 21:1 parasitoide-hospedeiro, respectivamente. Nas densidades de 28:1 e 32:1, 100,00 % das pupas de *T. molitor* foram parasitadas. A porcentagem de emergência variou de $40,0 \pm 6,67$ a 100,00% nas densidades de 1:1 e 32:1%, respectivamente. A duração do ciclo de vida de *T. howardi* foi de $20,19 \pm 0,36$ dias na densidade de 1:1 e de $18,88 \pm 0,55$ dias na densidade de 32:1. A progênie por pupa variou de $59,64 \pm 3,20$ a $181,80 \pm 15,68$ descendentes por pupa, nas densidades de 1:1 e 32:1, respectivamente. As densidades de 7, 14 e 21 fêmeas de *T. howardi* por pupa de *T. molitor* foram mais adequadas para a criação desse parasitoide.

Palavras-chave: parasitoide pupal e larval, controle biológico, número de parasitoide.

Reproduction of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) in pupae of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) depending on the density parasitoid

Abstract: *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) is a possible agent of biological control of *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) in cultivation of sugar cane in Brazil, therefore research is needed to rearing in laboratory. The objective of this study was to determine whether the density of females influences the reproductive capacity of *T. howardi* rearing in pupae of *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae). For this, female *T. howardi* were exposed to parasitism of pupae of *T. molitor* at densities 1:1, 7:1, 14:1, 21:1, 28:1 and 32:1, parasitoid-host, respectively. The percentage of parasitism of *T. howardi* on pupae of *T. molitor* was 70.0 ± 5.37 , 92.0 ± 3.27 , 96.0 ± 2.67 and $98.0 \pm 2.00\%$ for the densities of 1:1, 7:1, 14:1, 21:1 parasitoid-host, respectively. The densities of 28:1 and 32:1, 100.0% of pupae of *T. molitor* were parasitized. The emergence percentage varied from 40.0 ± 6.67 to 100.0% in the densities of 1:1 and 32:1%, respectively. The duration of the life cycle of *T. howardi* was 20.19 ± 0.36 days in the density of 1:1 and 18.88 ± 0.55 days in the density of 32:1. The progeny per pupa ranged from 59.64 ± 3.20 to 181.80 ± 15.68 offspring per pupa, the densities of 1:1 and 32:1, respectively. The densities of 7, 14 and 21 females of *T. howardi* by pupae of *T. molitor* were more suitable for the rearing of this parasitoid.

Keywords: parasitoid pupae and larvae, biological control, number of parasitoid.

Introdução

Tetrastichus howardi (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide pupal (CRUZ et al., 2011) e larval (GRANCE et al., 2011; KARINDAH et al., 2005), gregário e cosmopolita (KFIR et al., 1993). Estudos foram realizados com *T. howardi* como agente potencial de controle biológico para a cultura da cana-de-açúcar em Cuba (GONZÁLEZ, 2004) e no Brasil (GRANCE et al., 2011). Há relatos desse parasitoide em diversas espécies de lepidópteros das famílias Crambidae, Plutellidae, Pyralidae e Noctuidae, além de registro de parasitismo em Coleoptera da família Tenebrionidae (KFIR, 1997; CHAO-DONG e DA-WEI, 2001).

Para utilização de parasitoides em programas de controle biológico deve-se conhecer os aspectos biológicos e comportamentais para criação desses inimigos naturais em laboratório (PRATISSOLI et al., 2003; ANDRADE et al., 2010). No entanto, a dificuldade de manter criações de hospedeiros naturais em laboratório exige que os parasitoides sejam reproduzidos em hospedeiros alternativos (PARRA et al., 2002; SIQUEIRA et al., 2012)

O sucesso da utilização de parasitoides, no controle biológico, também depende da proporção adequada desses inimigos naturais em relação aos hospedeiros-alvo (PARON et al., 1998). Informações sobre a mais adequada densidade de fêmeas parasitoides por hospedeiro são fundamentais para se obter sucesso com a criação desses agentes de controle biológico, especialmente de pupas. De maneira geral, a capacidade de parasitismo, a produção da progênie, a razão sexual, o ciclo de vida, a longevidade e o tamanho do corpo do parasitoide são aspectos biológicos investigados que fazem parte deste estudo (ZACARIN et al., 2004; PEREIRA et al., 2010ab; PASTORI et al., 2012).

Um exemplo da importância de se avaliar as características biológicas expressadas de parasitoides em hospedeiros alternativos seria o estudo realizado com o parasitoide *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae), pertencente a mesma família que *T. howardi* que mostrou bom desempenho reprodutivo quando criado no hospedeiro alternativo *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae), obtendo-se porcentagem de parasitismo e emergência nos valores de 100,00 e 90,76%, respectivamente, duração do ciclo de vida

(ovo-adulto) de $23,42 \pm 0,18$ dias. A progênie deste parasitoide produzida por pupa de *T. molitor* foi de $70,07 \pm 2,50$, e o número de fêmeas produzidas por fêmea foi de $16,43 \pm 0,59$, a razão sexual foi de $0,94 \pm 0,01$. A longevidade média foi de $22,65 \pm 1,13$ para fêmeas e $28,3 \pm 2,38$ para machos de *P. elaeisis* (ZANUNCIO et al, 2008).

Além disso, o hospedeiro alternativo *T. molitor* possui a vantagem de poder ser criado facilmente em grandes quantidades e com baixo custo (OTUKA et al., 2006), testes preliminares mostraram que suas pupas podem ser parasitadas por *T. howardi*. A quantidade de fêmeas parasitoides utilizadas por hospedeiro demonstrou ser uma informação relevante para o estabelecimento de criação de parasitoides (PEREIRA et al., 2010b)

Objetivou-se verificar se a densidade de fêmeas do parasitoide *T. howardi* afeta a capacidade reprodutiva do mesmo criado em pupas de *T. molitor*.

Material e Métodos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Entomologia/Controle Biológico (LECOBIOL) da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, com as seguintes etapas:

Criação do hospedeiro alternativo *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae)

As larvas foram mantidas em bandejas plásticas de 29x23x11 cm e alimentadas com farelo de trigo (97%), levedo de cerveja (3%) e fatias de chuchu (ZAMPERLINE e ZANUNCIO, 1992), couve, cana-de-açúcar ou pepino, para suplementar a alimentação.

Criação de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae)

Adultos de *T. howardi* foram mantidos em tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro e 8,5 cm de altura) vedados com algodão alimentados com gotículas de mel puro. Para manutenção da criação, pupas de *T. molitor* com 24 a 48 horas foram expostas ao parasitismo por 72 horas. Após esse período as pupas parasitadas foram individualizadas e mantidas em sala climatizada até a emergência de adultos, conforme metodologia adaptada para criação do parasitoide *P. elaeisis* (PEREIRA et al., 2008; PEREIRA et al., 2010a).

Desenvolvimento experimental

Pupas de *T. molitor* com até 24 horas de idade foram individualizadas em tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro e 8,5 cm de altura) juntamente com fêmeas de *T. howardi* de 24 horas de idade nas densidades de 1:1, 1:7, 1:14, 1:21, 1:28 e 1:32, hospedeiro: parasitoide, respectivamente. Após 72 horas de contato com as pupas, as fêmeas de *T. howardi* foram retiradas dos tubos e os hospedeiros individualizados e mantidos em sala climatizada a temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$, umidade relativa de $70\% \pm 10$, e fotofase de 14 horas, para a emergência dos adultos desse parasitoide.

As seguintes características biológicas foram avaliadas (descontando-se a mortalidade natural do hospedeiro, em todas as características. Para isso foram individualizadas pupas nas mesmas condições utilizadas no experimento, porém sem serem expostas ao parasitismo, aguardando a emergência de adultos): a porcentagem de parasitismo (avaliação do número de pupas parasitadas por tratamento), a porcentagem de emergência (número de pupas com emergência da progênie), o número de parasitoides emergidos de cada pupa, a duração do ciclo de vida (ovo-adulto), a razão sexual ($RS = \text{número de fêmeas} / \text{número de adultos}$), sendo o sexo dos parasitoides determinado de acordo com características morfológicas da antena (KFIR et al., 1993), a progênie produzida por fêmea ($PF = \text{número de descendentes fêmeas} / \text{densidade fêmeas}$) a largura da cápsula cefálica (para avaliação dessa característica foram escolhidos ao acaso em cada tratamento, 20 fêmeas e 20 machos de *T. howardi*, visando medir a largura da cápsula cefálica em ocular micrométrica) e a longevidade média em dias (para avaliação dessa variável foram selecionados ao acaso 20 fêmeas e 20 machos de *T. howardi* de cada tratamento, sendo esses parasitoides no dia de sua emergência, individualizados em tubos de ensaio contendo uma gota de mel, onde permaneceram até a sua morte).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis tratamentos representados pelas densidades de fêmea por pupa hospedeira. Com 10 repetições, cada uma, constituída por cinco pupas de *T. molitor*, totalizando 50 pupas, foram individualizadas em tubos de vidro para cada densidade proposta. Os dados de parasitismo, emergência, progênie por pupa, ciclo de vida, razão sexual e progênie produzida por fêmea foram submetidos à análise de regressão e o modelo escolhido foi

baseado na significância dos coeficientes de regressão e determinação e no fenômeno biológico estudado. Para os dados de cápsula cefálica (fêmeas e machos) e de longevidade (fêmeas e machos), foi aplicado o Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade devido estes dados não se ajustarem aos modelos de regressão.

Resultados

O parasitoide *T. howardi* parasitou e se desenvolveu em pupas de *T. molitor* em todas as densidades testadas sendo a porcentagem de parasitismo, a de emergência da progênie e a progênie por pupa influenciadas diretamente pela densidade de fêmeas do parasitoide. A porcentagem de parasitismo ($F=10,2800$; $P= 0,0454$ e $R^2= 0,8727$) foi diretamente proporcional ao aumento da densidade com ponto de máximo de parasitismo obtido por 24 fêmeas do parasitoide (Figura 1). Nas densidades 28:1 e 32:1, 100,0% das pupas de *T. molitor* foram parasitadas (Figura 1). A porcentagem de emergência de *T. howardi* ($F=15,7711$; $P= 0,0256$ e $R^2= 0,7632$) oscilou entre as densidades testadas, sendo menor na densidade de 1:1 com média de $40,0\% \pm 6,67$; aumentando nas densidades de 7:1 e 14:1, obtendo médias de $90\% \pm 4,47$ nessas densidades, tendo uma pequena queda na densidade de 28:1, com média de $88\% \pm 6,11$ e seguindo uma tendência positiva nas densidades de 28:1 e 32:1, com médias de $96\% \pm 2,67$ e $100\% \pm 0,00$ respectivamente (Figura 2). A progênie produzida por pupa ($F= 12,8951$; $P= 0,0229$ e $R^2= 0,7632$) foi influenciada pela densidade de fêmeas com tendência linear de aumento a partir da densidade 1:1, chegando ao ponto máximo na densidade 28:1 e tendo uma pequena queda na densidade 32:1 (Figura 3).

A duração do ciclo (ovo-adulto) ($F=3,3332$, $P= 0,1729$ e $R^2= 0,6896$) de *T. howardi* variou de $20,58 \pm 0,75$ dias na densidade 7:1 à $18,28 \pm 0,24$ na densidade 21:1 (Figura 4). A razão sexual de *T. howardi* ($F= 24,2529$, $P= 0,0079$ e $R^2= 0,8584$) foi influenciada pela densidade de fêmeas com tendência linear de redução a partir da densidade 1:1 (Figura 5), demonstrando que houve diminuição do número de fêmeas descendentes a partir do aumento do número de fêmeas que efetuam o parasitismo. O

número de fêmeas produzidas por fêmea de *T. howardi* ($F= 15,1860$, $P= 0,0270$ e $R^2= 0,9101$) foi inversamente proporcional ao aumento da densidade e variou entre $54,73 \pm 2,87$ e $4,52 \pm 0,38$ para as densidades de 1:1 e 32:1, respectivamente (Figura 6).

As cápsulas cefálicas de indivíduos fêmeas e machos da densidade 1:1 foram maiores, diferindo das demais densidades (Tabela 1). A longevidade de machos e fêmeas oscilou entre as densidades testadas, no entanto foram semelhantes para machos e maiores para fêmeas provenientes das densidades 21:1, 28:1 e 32:1 (Tabela 1).

Discussão

O aumento da densidade de fêmeas de *T. howardi* influenciou positivamente a porcentagem de parasitismo e emergência em pupas de *T. molitor*. O mesmo ocorreu com *Trichospilus diatraeae* Cherian e Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) também Eulophidae que foi estudado parasitando pupas de *T. molitor* (FÁVERO, 2009). A capacidade de satisfação nutricional do hospedeiro é fator determinante para o desenvolvimento do parasitoide, além da resposta imune do hospedeiro por encapsulação que auxilia na proteção contra as toxinas injetas pelas fêmeas parasitoides durante a oviposição (SCHMID-HEMPEL, 2005; ANDRADE et al., 2010; CHICHERA et al., 2012). Todas as densidades de fêmeas de *T. howardi* avaliadas foram suficientes para o desenvolvimento dos imaturos em pupas de *T. molitor*, inclusive a proporção de uma fêmea por hospedeiro, esse fato comprova que pupas de *T. molitor* satisfazem nutricionalmente *T. howardi*, porém, em densidades menores, provavelmente a quantidade de toxina injetada pela fêmea não seja o suficiente para superar a defesa do hospedeiro.

A redução do tempo de desenvolvimento de parasitoides em seus hospedeiros pode ser atribuída à competição dos imaturos por nutrientes (GODFRAY, 1994). Isso explica o fato do ciclo de vida (ovo-adulto) de *T. howardi* criado em pupa de *T. molitor* ter reduzido com o aumento da densidade, pois houve competição entre os imaturos.

O número de *T. howardi* emergidos por pupa de *T. molitor* foi proporcional com o aumento da densidade, no entanto, na densidade 1:28 se estabilizou, ocorrendo uma

pequena queda na densidade de 1:32. As fêmeas parasitoides tem uma forte tendência a evitar o superparasitismo (SAGARRA et al. 2000a), além disso, a progênie varia conforme a espécie hospedeira (BITTENCOURT e BERTI FILHO, 2004; PEREIRA, 2006; PASTORI et al., 2012). Fato semelhante ocorreu com *T. diatraeae* em pupas de *T. molitor* (FÁVERO, 2009) e por *Palmistichus elaeisis* Delvare and La Salle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) criados em pupas de *Bombyx mori* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Bombycidae) (PEREIRA et al., 2010b). A densidade de fêmea de *T. howardi* em pupas de *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae), também teve um incremento com o aumento da densidade (GONZÁLEZ, 2004). Isso pode ter relação ao fato de que em determinada densidade a quantidade de descendentes aumenta, estabiliza e declina.

A razão sexual do parasitoide *T. howardi* em pupas de *T. molitor* foi influenciada pela densidade de fêmeas, apresentando valores maiores para as menores densidades. Pesquisas realizadas afirmam que a razão sexual é influenciada pela temperatura ambiente, pelo tempo de exposição ao parasitismo e pela densidade de fêmeas (GODFRAY, 1994; PACHECO E CORREA-FERREIRA, 1998). A eficiência do parasitoide para criação massal é maximizada quando um número elevado de fêmeas é obtido (SAGARRA et al., 2000b). De acordo com essas afirmações, os resultados obtidos demonstram que se forem utilizadas densidades muito elevadas de fêmeas de *T. howardi*, o número de descendentes machos aumentará, diminuindo a eficiência desse parasitoide, pois são as fêmeas que parasitam os hospedeiros.

A progênie produzida por fêmea de *T. howardi* reduziu significativamente com o aumento da densidade em pupas de *T. molitor*. Este fato pode ser explicado baseando-se na competição entre as larvas, que além de reduzir o número de indivíduos por hospedeiros pode ocasionar uma maior mortalidade dos imaturos (SCHMITDT, 1985; GODFRAY, 1994; GRANCE, 2010). Essa alteração é relativamente independente do número de ovos postos por fêmea. É essencialmente determinada pelo número de fêmeas ovipositando simultaneamente: quanto maior o número de fêmeas ovipositando, menor número de ovos fertilizados é produzido (WALKER, 1966).

A longevidade de fêmeas e de machos de *T. howardi* não foi afetada pelo aumento das densidades, sendo superior a 25 dias. Diferindo da longevidade obtida

quando *T. howardi* foi criado em *Heliothis armigera* Hübner 1803 (Lepidoptera: Noctuidae) e *Chilo partelus* Swinhoe, 1885 (Lepidoptera: Crambidae), em que a longevidade da fêmea foi de $23,6 \pm 2,8$ dias e do macho $16,7 \pm 3,4$ dias (KFIR et al., 1993). Este período de vida é suficiente para que esses parasitoides, quando liberados no campo, se reproduzam e encontrem seus hospedeiros. Além disso, é importante mencionar, que quanto maior o período de sobrevivência na fase adulta, mais tempo para transporte das biofábricas para os locais de liberação (CHICHERA, 2011). Portanto essa característica observada em *T. howardi* é positiva para a possível utilização desse parasitoide como agente de controle biológico.

A densidade de fêmeas de *T. howardi* utilizada por pupa de *T. molitor*, afetou o tamanho da capsula cefálica de machos e fêmeas dos descendentes de *T. howardi*. O tamanho do corpo tem correlação positiva com diversos indicadores de qualidade que podem indicar a eficiência de parasitoides (PEREIRA et al., 2010a). Demonstrando que nas densidades maiores o tamanho dos insetos é menor, e as densidades melhores para serem utilizadas são iguais ou menores que 21 fêmeas por pupa.

De maneira geral, *T. howardi* expôs as melhores características biológicas (maior porcentagem de parasitismo e emergência, menor ciclo de vida, maior progênie e razão sexual), quando foram utilizadas 7 a 21 fêmeas por pupa de *T. molitor*. A escolha da densidade para multiplicação deste parasitoide vai depender do objetivo de sua utilização e disponibilidade de fêmeas de *T. howardi*.

Conclusões

As densidades de 7, 14 e 21 fêmeas de *T. howardi* por pupa de *T. molitor* foram as mais adequadas para a criação desse parasitoide.

Agradecimentos

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão de bolsa de estudo. E ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelos recursos cedidos a execução deste trabalho.

Referências

- ANDRADE, G.S.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C.; ZANUNCIO, T.V.; LEITE, G. L. D.; POLANCZYK, R. A. Immunity of an Alternative Host Can Be Overcome by Higher Densities of Its Parasitoids *Palmistichus elaeisis* and *Trichospilus diatraeae*. **Plos One**. v.5, n. 1, p. 1-7, 2010.
- BITTENCOURT, M. A. L.; BERTI FILHO, E. Desenvolvimento dos estágios imaturos de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera, Eulophidae) em pupas de Lepidoptera. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 48, n. 1, p. 65-68, 2004.
- CHAO-DONG, Z.; DA-WEI, H. A Taxonomic Study on Eulophidae from Zhejiang, China (HYMENOPTERA: CHALCIDOIDEA). **Acta Zootaxonomica Sinica**. v. 26, n. 4, p. 533-547, 2001.
- CHICHERA, R. A.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O. ; BARBOSA, R. H.; PASTORI, P. L.; ROSSONI, C. Capacidade de busca e reprodução de *Trichospilus diatraeae* e *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Interciencia**. v. 37, n. 11, p. 852-856, 2012.
- CRUZ, I.; REDOAN, A.C.; SILVA, R.B.; FIGUEIREDO, M.L.C.; PENTEADO-DIAS, A.M. New record of *Tetrastichus howardi* (Olliff) as a parasitoid of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) on maize. **Scientia Agricola** v. 68, n.4, p. 252-254, 2011.
- FÁVERO, K. **Biologia e Técnicas de Criação de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) e *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)**. 2009. 63p. Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS.
- GRANCE, E.L.V. **Potencial de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar**. Dourados, MS. UFGD. 2010. Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) – Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD. Dourados, MS. 2010.
- GRANCE, E. L. V.; PEREIRA, F. F. ; TAVARES, M. T. ; PASTORI, P. L. . Record of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Diatraea* sp. (Lepidoptera: Crambidae) in sugarcane crop in Brazil. **Entomotropica**. v. 26, n.3, p. 143 - 146. 2011.
- GODFRAY, H. C. J. **Parasitoids, behavioral and evolutionary ecology**, Princeton: University Press, 473 p. 1994.
- GONZÁLEZ, J. F. Á. **Estudios bioecológicos, reproducción artificial y liberación de *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoide pupal de *Diatraea saccharalis* (Fab.) en Cuba**. Tesis para aspirar al grado científico de Doctor

en Ciencias Agrícolas. Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar Universidad Central de Las Villas. Santa Clara. 2004.

HENSLEY, S. D.; HAMMOND, A. H. Laboratory techniques for rearing the sugar cane borer on an artificial diet. **Journal Economy Entomology**, v. 61, n. 1, p. 1742-1743, 1968.

KARINDAH, S.; SUTANTO, E.; SISWANTO DAN, L.; SULISTYOWATI. Parasitoid Larva-Pupa *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulopidae) pada *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae) di Pertanaman Kubis Kecamatan Batu dan Poncokusumo, Kabupaten Malang. **Jurnal Entomologi Indonesia**, v. 1, n.2, p. 61-68, 2005.

KFIR, R.; GOUWS J.; MOORE, S.D. Biology of *Tetrastichus howard* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae): A Facultative hyperparasitoid of stem borers. **Biocontrol Science and Technology**, v.3, n. 1, 149-159, 1993.

KFIR, R. Parasitoids of *Plutella xylostella* (Lep.: Plutellidae) in South Africa: Anannotated list. **Entomophaga**. v.42, n. 4, p.517-523, 1997.

OTUKA, A.K.; VACARI, A.M.; MARTINS, M.I.E.G.; BORTOLI, S.A. De. Custo de produção de *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) criado com diferentes presas. **O Biológico**, v.68, n.1, p.224-227, 2006.

PACHECO, D.J.P.; CORREA-FERREIRA, B.S. Potencial reprodutivo e longevidade do parasitoide *Telenomus podisi* Ashmead, em ovos de diferentes espécies de percevejos. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.27, n.1, p.585-591, 1998.

PARON, M.J.F.O.; CIOCIOLA, A. I.; CRUZ, I. Resposta de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) a diferentes densidades de ovos do hospedeiro natural, *Helicoverpa zea* (Boddie) (LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, n.1, p. 427- 433, 1998.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. 635 p.

PARRA, J. R. P. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. 6ª ed. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 2007.

PASTORI, P.L.; PEREIRA, F.F.; ANDRADE, G.S.; SILVA, R.O.; ZANUNCIO, J.C.; PEREIRA, A.Á.A. Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) in pupae of two lepidopterans defoliators of eucalypt. **Revista Colombiana de Entomología**. v.38, n.1, p. 91-93. 2012.

PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; PASTORI, P. L.; PEDROSA, A. R.; OLIVEIRA, H. N. Parasitismo de *Palmistichus elaeisis* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) em hospedeiro alternativo sobre plantas de eucalipto em semi-campo. **Revista Ciência Agrônômica**. v.41, n.4, p. 715-720, 2010a.

PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, T. V.; PRATISSOLI, D.; PASTORI, P. L. The density of females of the *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. v. 82, n.2, p. 1-9, 2010b.

PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; PASTORI, P. L.; CHICHERA, R. A.; ANDRADE, G. S.; SERRÃO, J. Reproductive biology of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) with alternative and natural hosts. **Zoologia**, v. 27, n.6, p. 887-891, 2010c.

PRATISSOLI, D.; FORNAZIER, M.J.; HOLTZ, A.M.; GONCALVES, J.R.; CHIORAMITAL, A.B.; ZAGO, H.B. Ocorrência de *Trichogramma pretiosum* em áreas comerciais de tomate, no Espírito Santo, em regiões de diferentes temperaturas. **Horticultura Brasileira** v.21, n.1, p.73-76, 2003.

SAGARRA, L. A.; PETERKIN, D.D.; VICENT, C.; STEWART, R.K. Immune response of the hibiscus mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* Green (Homoptera: Pseudococcidae), to oviposition of the parasitoid *Anagyrus kamali* Moursi (Hymenoptera: Encyrtidae). **Journal of Insect Physiology**, v.46, n.3, p.647-653, 2000a.

SAGARRA, L.A.; VICENT, C.; STEWART, R.K. Mutual interference among female *Anagyrus kamali* Moursi (Hymenoptera: Encyrtidae) and its impact on fecundity, progeny production and sex ratio. **Biocontrol Science and Technology**, v.10, n.2, p.239- 244, 2000b.

SCHMID-HEMPEL, P. Evolutionary ecology of insect immune defenses. **Annual Review of Entomology**, v.50, n. 23, p.529-551, 2005.

SCHMIDT, J. M.; SMITH, J. J. B.; The mechanism by which the parasitoid wasp *Trichogramma minutum* responds to host clusters. **Entomologia Experimentalis et Applicata** v.39, n.5, p.287-294, 1985.

SIQUEIRA, J. R.; BUENO, R.C.O.F.; BUENO, A. F.; VIEIRA, S.S. Preferência hospedeira do parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum*. **Ciência Rural**, v.42, n.1, p. 1-5, 2012.

ZACARIN, G.G.; GOBBI, N.; CHAUD NETTO, J. Capacidade reprodutiva de fêmeas de *Apanteles galleriae* (Hymenoptera, Braconidae) em lagartas de *Galleria mellonella* e *Achroia grisella* (Lepidoptera, Pyralidae) criadas com dietas diferentes. **Iheringia - Série Zoologia**, v.94, n.4, p.139-147, 2004.

ZAMPERLINE, B.; ZANUNCIO, J.C.; Influência da alimentação de *Tenebrio molitor* L. 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae) no desenvolvimento ninfal de *Podisus connexivus* Bergroth, 1891 (Hemiptera: Pentatomidae). **Revista Árvore**, v. 16, n.2, p.224-230, 1992.

ZANUNCIO, J. C.; PEREIRA, F. F.; JACQUES, G. C.; TAVARES, M. T.; SERRÃO, J. E. *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae), a New Alternative Host to Rear the Pupae Parasitoid *Palmistichus elaeisis* Delvare & Lasalle (Hymenoptera: Eulophidae). **The Coleopterists Bulletin**, v. 62. p. 63-66. 2008.

WALKER, I. Effect of population density on the viability and fecundity in *Nasonia vitripennis* Walker (Hymenoptera: Eulophidae). **Ecology**. v.48, p.294-301, 1966.

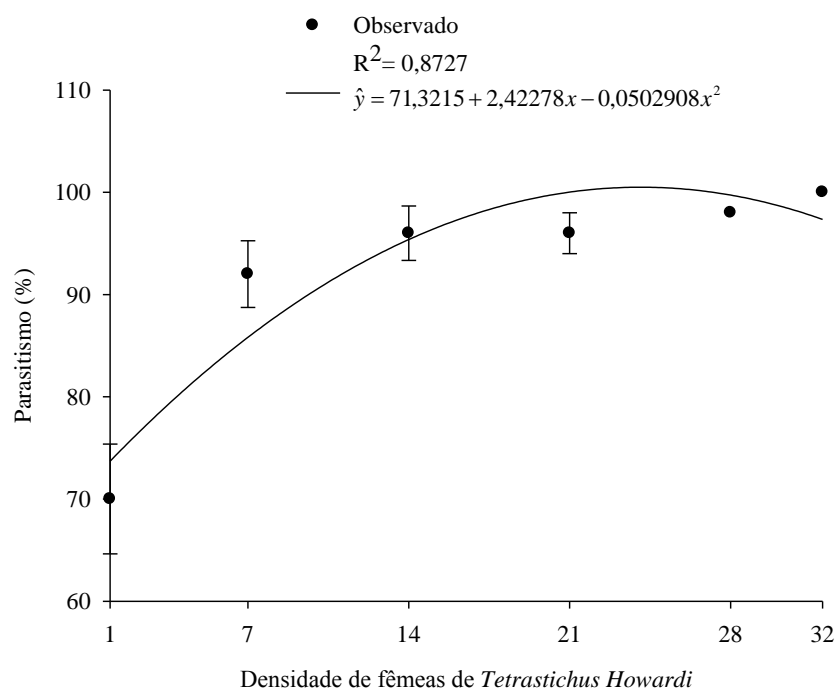


Figura 1 – Porcentagem de parasitismo de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) com 1, 7, 14, 21, 28 ou 32 fêmeas por pupa de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) a 25 ± 1 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$, e fotofase de 14 horas ($F=10,2800$ e $P= 0,0454$).

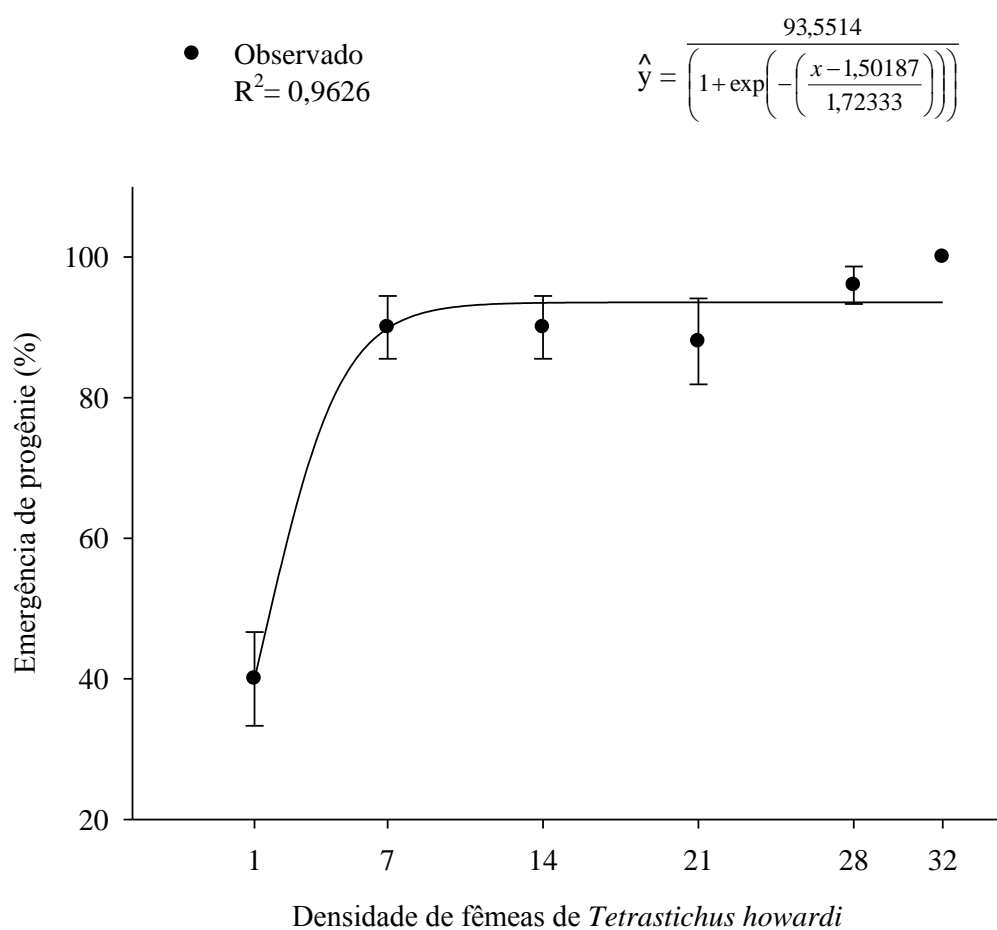


Figura 2 – Porcentagem de emergência de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) com 1, 7, 14, 21, 28 ou 32 fêmeas por pupa de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) a 25 ± 1 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$, e fotofase de 14 horas (F= 38,6530, P= 0,0072).

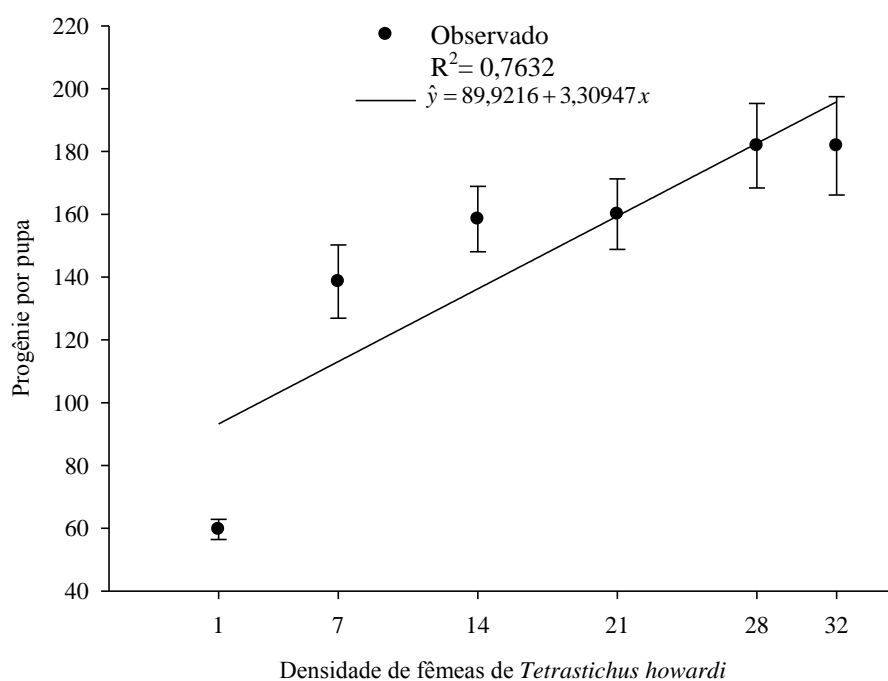


Figura 3 – Progênie de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) com 1, 7, 14, 21, 28 ou 32 fêmeas desse parasitoide por pupa de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$, e fotofase de 14 horas ($F = 12,8951$ e $P = 0,0229$).

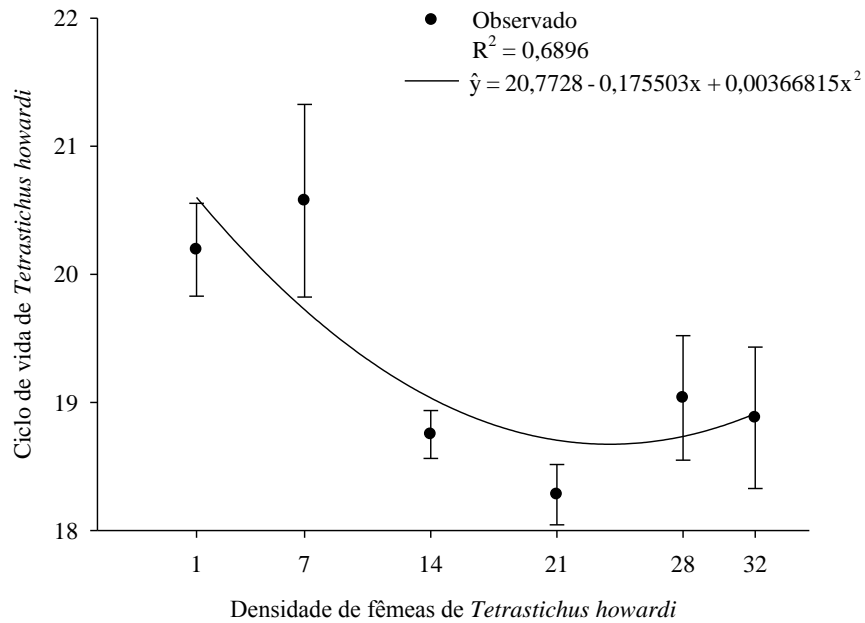


Figura 4: Duração do ciclo (ovo-adulto) de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) com 1, 7, 14, 21, 28 ou 32 fêmeas por pupa de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$, e fotofase de 14 horas ($F = 3,3332$ e $P = 0,1729$).

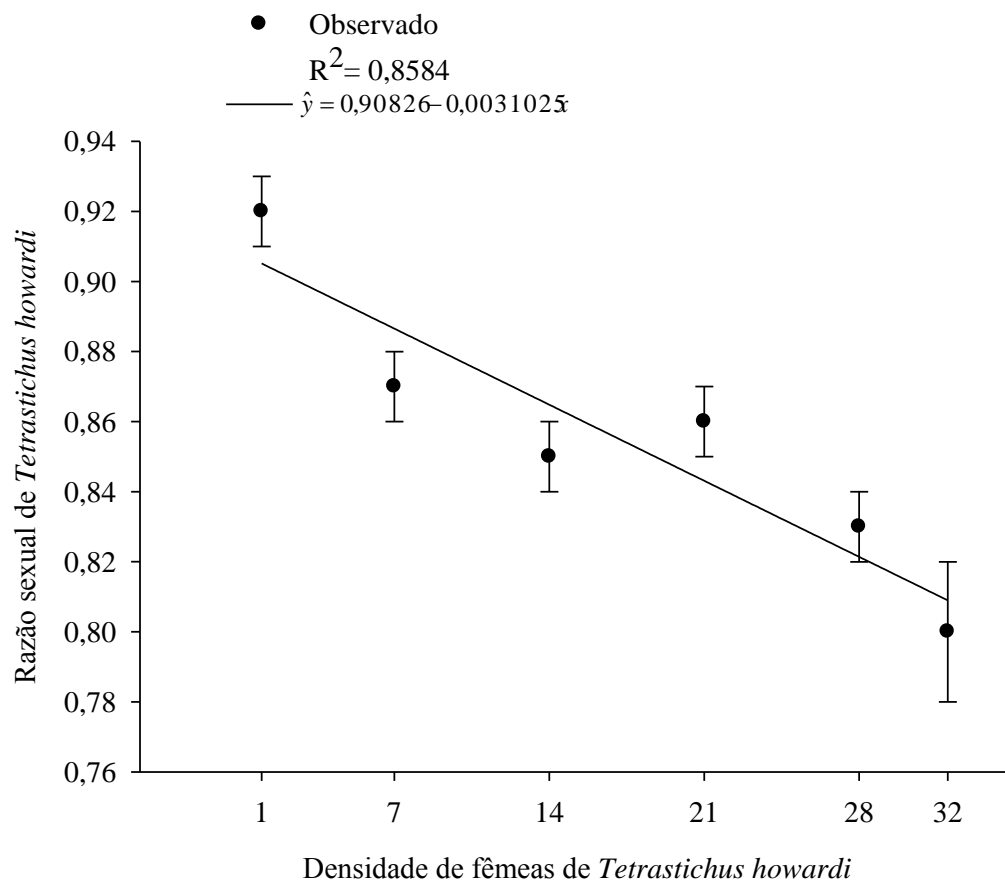


Figura 5 – Razão sexual de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) com 1, 7, 14, 21, 28 ou 32 fêmeas desse parasitoide por pupa de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) a 25 ± 1 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$, e fotofase de 14 horas ($F = 24,2529$ e $P = 0,0079$).

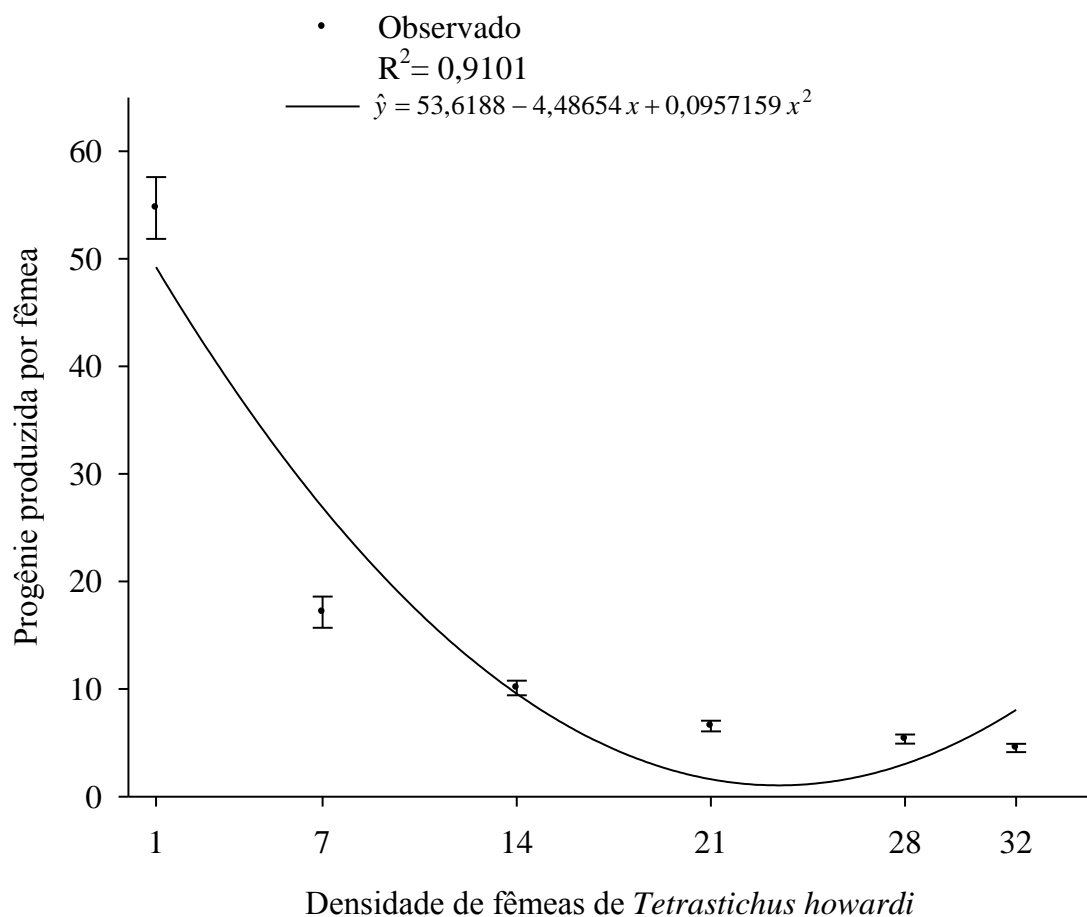


Figura 6 – Progênie por fêmea de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) com 1, 7, 14, 21, 28 ou 32 fêmeas desse parasitoide por pupa de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) a 25 ± 1 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$, e fotofase de 14 horas (F=15,1860 e P= 0,0270).

Tabela 1: Cápsula cefálica (médias \pm erro Padrão) e longevidade (médias \pm erro padrão) de fêmeas e machos de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) criado no hospedeiro alternativo *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) a de 25 ± 1 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$, e fotofase de 14 horas.

| Densidade Parasitoide/Pupa | N | Cápsula Cefálica | | Longevidade | |
|----------------------------|----|------------------|------------------|-------------------|-------------------|
| | | Fêmea | Macho | Fêmea | Macho |
| 1:1 | 20 | 0,57 \pm 0,01a | 0,48 \pm 0,02a | 25,00 \pm 1,68b | 25,70 \pm 1,54a |
| 7:1 | 20 | 0,49 \pm 0,01b | 0,37 \pm 0,02b | 34,10 \pm 3,52b | 34,90 \pm 4,93a |
| 14:1 | 20 | 0,40 \pm 0,02d | 0,36 \pm 0,01b | 27,35 \pm 2,96b | 26,05 \pm 3,37a |
| 21:1 | 20 | 0,46 \pm 0,02c | 0,38 \pm 0,01b | 46,10 \pm 3,59a | 37,65 \pm 4,75a |
| 28:1 | 20 | 0,40 \pm 0,01d | 0,36 \pm 0,01b | 41,10 \pm 4,18a | 33,75 \pm 4,18a |
| 32:1 | 20 | 0,43 \pm 0,01d | 0,36 \pm 0,01b | 37,80 \pm 4,64a | 32,40 \pm 4,64a |

N= Número total de parasitoides analisados.

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

Foi aplicado o Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade

Capítulo II

Influência da idade de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) na progênie de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae)

Influência da idade de pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) na progênie de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae)

Resumo: *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) vem sendo estudado para possivelmente ser utilizado em programas de controle biológico de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). No Brasil foi encontrado parasitando pupas de *D. saccharalis* nas culturas de cana-de açúcar e milho. Devido sua produção em larga escala no hospedeiro natural *D. saccharalis* ser de alto custo, foi utilizado como hospedeiro alternativo *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae). O objetivo desse trabalho foi avaliar em qual idade das pupas do hospedeiro *T. molitor*, o parasitoide *T. howardi* melhor se desenvolveu. Para tanto, fêmeas de *T. howardi*, nas densidades de 7:1, parasitoide, hospedeiro, respectivamente, foram expostas ao parasitismo de pupas de *T. molitor*, nas idades de 12, 24, 48, 72, 96 e 120 horas. A porcentagem de parasitismo de *T. howardi* sobre pupas de *T. molitor* foi de $70 \pm 6,15$, $88 \pm 4,42$, $52 \pm 6,11$, $54 \pm 6,00$ e $42 \pm 6,29$ % para as idades de 12, 24, 48, 72 e 96 horas respectivamente, ocorrendo parasitismo apenas em duas pupas de 120 horas e não havendo emergência. A porcentagem de emergência oscilou entre $44 \pm 7,18$; $76 \pm 6,53$; $36 \pm 4,99$; $54 \pm 6,00$ e $24 \pm 5,81$ % nas idades de 12, 24, 48, 72 e 96 horas, respectivamente. A duração do ciclo de vida de *T. howardi* foi de $22,31 \pm 0,63$ dias na idade de 12 horas e de $15,90 \pm 3,49$ dias na idade de 96 horas. A progênie por pupa atingiu os maiores índices nas idades de 24 e 72 horas, obtendo médias de $112,19 \pm 8,72$ e $119,27 \pm 17,96$ de descendentes por pupa, respectivamente. A razão sexual de *T. howardi* oscilou entre 0,65 e 0,90 %. Pupas de *T. molitor* com idade de 24 horas foram as mais adequadas para a criação desse parasitoide.

Palavras-chave: parasitoide pupal e larval, controle biológico, idade de parasitoide.

Influence of age pupal *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) in the progeny of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae)

Abstract: *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) has been studied for possible use in biological control programs of *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). In Brazil found parasitizing pupae of *D. saccharalis* crops of sugar cane and corn. Since its large-scale production of *D. saccharalis* in natural host would be expensive, it was used as an alternative host, *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae). The aim of this study was to evaluate the age at which the host pupae *T. molitor*, the parasitoid *T. howardi*, is better developed. Therefore, females of *T. howardi* at densities of 7:1, parasitoid host, respectively, were exposed to parasitism of pupae of *T. molitor*, at ages 12, 24, 48, 72, 96 and 120 hours. The percentage of parasitism of *T. howardi* on pupae of *T. molitor* were 70 ± 6.15 , 88 ± 4.42 , 52 ± 6.11 , 54 ± 6.00 and $42 \pm 6.29\%$ at ages 12, 24, 48, 72 and 96 hours respectively, occurring parasitism only two pupae 120 hours and if no emergency. The emergence percentage ranged between 44 ± 7.18 , 76 ± 6.53 , 36 ± 4.99 , 54 ± 6.00 and $24 \pm 5.81\%$ at ages 12, 24, 48, 72 and 96 hours, respectively. The duration of the life cycle of *T. howardi* was 22.31 ± 0.63 days of age for 12 hours and 15.90 ± 3.49 days in the age of 96 hours. The progeny per pupa reached the highest

levels at ages 24 and 72 hours, averaging 112.19 ± 8.72 and 119.27 ± 17.96 of offspring per pupa, respectively. The sex ratio of *T. howardi* ranged between 0.65 and 0.90%. Pupae of *T. molitor* aged 24 hours were the most suitable for the rearing of this parasitoid.

Keywords: parasitoid pupae and larvae, biological control, parasitoid age.

Introdução

A família Eulophidae possui 4.472 espécies descritas em 297 gêneros, sendo a maior na Superfamília Chalcidoidea (NOYES, 2003). Podem ser parasitoides de ovos, larvas e pupas de mais de dez ordens de insetos sendo solitários, gregários, idiobiontes, cenobiontes, ectoparasitoides e endoparasitoides (PARRA, 2002). Tendo muitas espécies utilizadas em programas de Controle Biológico.

Tetrastichus howardi Olliff, 1893 (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide larval e pupal relatado em diversas espécies de lepidópteros das famílias Crambidae, Plutellidae, Pyralidae e Noctuidae, além de registro de parasitismo em Coleoptera da família Tenebrionidae (KFIR, 1997; CHAO-DONG e DA-WEI, 2001). No Brasil, *T. howardi* foi encontrado parasitando pupas de *D. saccharalis* em plantas de cana-de açúcar e milho (GRANCE et al., 2011; CRUZ et al., 2011). Trabalhos de Controle Biológico utilizando *T. howardi* parasitando *D. saccharalis* foram realizados na Cuba (GONZÁLEZ, 2004).

Diante desses relatos, pressupõe-se que este parasitoide tenha grande potencial para ser utilizado em programas de controle biológico de *D. saccharalis* no Brasil. O estabelecimento de criações do parasitoide com o hospedeiro natural *D. saccharalis* demanda altos custos, portanto seria interessante a utilização de um hospedeiro alternativo que não afetasse a produção em larga escala. Uma alternativa seria o hospedeiro *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae), pois requer baixos custos de produção. Para a otimização de criações de parasitoides com hospedeiros alternativos são necessários estudos que disponibilizem informações importantes como qualidade nutricional, idade, resistência mecânica e capacidade de resposta imunológica (GODFRAY, 1994).

Os parasitoides na maioria das vezes visando a sobrevivência e o desenvolvimento dos imaturos para a produção de adultos parasitam hospedeiros com idades mais favoráveis. A idade avançada do hospedeiro pode influenciar negativamente na sua qualidade (PEREIRA et al., 2009; PASTORI et al., 2012; WANG e LIU, 2002).

As mudanças histológicas necessárias ao aparecimento do adulto, que ocorrem na pupa são de dois tipos, histólise, que é a digestão dos tecidos larvais e a histogênese

que é a formação dos tecidos do futuro adulto. Ambos os fenômenos ocorrem simultaneamente durante a fase de pupa, na qual se passam grandes transformações (GALLO et al., 2002).

Diversos estudos comprovam que a idade do hospedeiro pode influenciar na capacidade de parasitoides se desenvolverem e se reproduzirem (PEREIRA et al., 2009; PASTORI et al., 2012). Este fato nos motivou a identificar a idade mais adequada da pupa do hospedeiro alternativo *T. molitor* para se utilizar na multiplicação do parasitoide *T. howardi*.

Tendo em vista a utilização de *T. molitor* como hospedeiro alternativo de *T. howardi* para criações massais desse parasitoide. Estudos são necessários sobre o desenvolvimento desse inimigo natural e uma característica importante seria descobrir qual a idade recomendada do hospedeiro *T. molitor* para melhor desenvolvimento do parasitoide.

Material e Métodos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Entomologia e Controle Biológico (LECOBIOL) da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, com as seguintes etapas:

Criação do hospedeiro alternativo *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae)

As larvas de *T. molitor* foram mantidas em bandejas plásticas de 29 x 23 x 11cm e alimentadas com farelo de trigo (97%), levedo de cerveja (3%) e fatias de chuchu (ZAMPERLINE e ZANUNCIO, 1992), couve, cana-de-açúcar ou pepino, para suplementar a alimentação.

Criação de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae)

Adultos de *T. howardi* foram mantidos em tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro e 8,5 cm de altura) vedados com algodão alimentados com gotículas de mel puro. Para manutenção da criação, pupas de *T. molitor* com 24 a 48 horas foram expostas ao parasitismo por 72 horas. Após esse período as pupas parasitadas foram individualizadas e mantidas em sala climatizada até a emergência de adultos, conforme metodologia adaptada para criação do parasitoide *Palmistichus elaeisis* (Delvare and

LaSalle, 1993) (Hymenoptera: Eulophidae) (PEREIRA et al, 2008; PEREIRA et al, 2010).

Desenvolvimento experimental

Pupas de *T. molitor* com 12, 24, 48, 72, 96 e 120 horas de idade foram expostas ao parasitismo de fêmeas de *T. howardi* de 24 horas, na densidade de 7:1 parasitoide hospedeiro. Cada relação (hospedeiro-parasitoide) foi acondicionada em tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro e 8,5 cm de altura) tampados com algodão. As pupas de *T. molitor* foram expostas ao parasitismo por 72 horas [(determinado por teste preliminar como mais eficiente) (eficiência medida em termos de porcentagem de parasitismo e emergência de descendentes)]; após este período as fêmeas do parasitoide foram eliminadas e as pupas foram individualizadas em tubos de vidro e mantidas em sala climatizada a temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$, umidade relativa de $70\% \pm 10$, e fotofase de 14 horas, para a emergência dos adultos desse parasitoide.

Foram avaliadas, a duração do ciclo de vida (ovo-adulto), a porcentagem de parasitismo (avaliação do número de pupas parasitadas por tratamento descontando-se a mortalidade natural do hospedeiro; individualizando pupas nas mesmas condições utilizadas no experimento, porém sem serem expostas ao parasitismo, aguardando a emergência de adultos), a porcentagem de emergência (número de pupas com emergência da progênie), número de parasitoides emergidos, a razão sexual (RS= número de fêmeas/ número de adultos), a longevidade média em dias (para essa avaliação foram selecionados ao acaso 20 fêmeas e 20 machos de *T. howardi* de cada tratamento, sendo esses parasitoides no dia de sua emergência, individualizados em tubos de ensaio contendo uma gota de mel, onde permaneceram até a sua morte), a largura da cápsula cefálica (para avaliação dessa característica foram escolhidos ao acaso em cada tratamento, 20 fêmeas e 20 machos de *T. howardi*, visando medir a largura da cápsula cefálica em ocular micrométrica). O sexo dos parasitoides foi determinado de acordo com características morfológicas da antena (KFIR et al., 1993).

O delineamento foi inteiramente casualizado com seis tratamentos representados pelas idades do hospedeiro *T. molitor*. Com 10 repetições, cada uma constituída por cinco pupas de *T. molitor*, totalizando 50 pupas. Estas foram individualizadas em tubos de vidro nas idades propostas. Os valores de ciclo de vida foram submetidos à análise

de variância e quando significativos, a 5% de probabilidade, a análise de regressão. Os demais caracteres biológicos, por não se ajustarem aos modelos de regressão, foram submetidos a análise de variância e quando significativo, foi utilizado o teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Resultados

O parasitoide *T. howardi* parasitou e se desenvolveu em pupas de *T. molitor* em todas as idades testadas, exceto a idade de 120 horas, onde houve parasitismo somente em duas pupas, não havendo emergência. Os maiores valores de parasitismo e emergência foram observados em pupas com 24 horas de idade, sendo as médias de $88\% \pm 4,42$; e $76,00 \pm 6,53$ respectivamente (Tabela 1).

A duração do ciclo (ovo-adulto) de *T. howardi* aumentou da primeira idade testada do hospedeiro, 12 horas até a idade de 48 horas ($23,31 \pm 0,63$; $24,52 \pm 0,98$ respectivamente), onde foram originados os descendentes com ciclo de vida mais longo do experimento, a partir daí decrescendo até a idade de 96 horas (Figura 1).

As maiores médias da progênie produzida por pupa de *T. molitor* foram observadas em pupas de 72 horas de idade ($119,27 \pm 13,31$) e as menores médias foram observadas na idade de 96 horas (média: $60,20 \pm 17,96$) (Tabela 1).

A razão sexual de *T. howardi* reduziu com o aumento da idade do hospedeiro *T. molitor* passando de $0,90 \pm 0,01$ nas idades de 12 e 24 horas para $0,79 \pm 0,05$ na idade de 48 horas, aumentando com 72 horas, $0,83 \pm 0,05$; e finalmente diminuindo com 96 horas ($0,65 \pm 0,14$) (Tabela 1).

A progênie produzida por fêmea oscilou entre as idades do hospedeiro, obtendo porcentagem maior na idade de 24 horas ($99,52 \pm 7,15$). E sendo menor na idade de 96 horas ($56,12 \pm 16,62$) (Tabela 1).

A longevidade de machos e fêmeas foi maior na idade de 96 horas sendo as médias de $45,20 \pm 1,84$ e $37,35 \pm 2,44$ para machos e fêmeas respectivamente (Tabela 1).

Discussão

A maior porcentagem de parasitismo e emergência ocorridos na idade das pupas de 24 horas demonstra que *T. howardi* tem dificuldade para se desenvolver em pupas mais desenvolvidas, com mais de 24 horas, pois talvez elas não estejam adequadas

fisiologicamente e nutricionalmente (PASTORI et al., 2012). Fato semelhante ocorreu em experimento testando o parasitoide *Microplitis rufiventris* (Braconidae: Hymenoptera) em lagartas de *Spodoptera littoralis* (Boisduval, 1833) (Noctuidae; Lepidoptera) de diferentes idades, mostrando que em idades menores o parasitoide teve um melhor desenvolvimento produzindo mais descendentes que nas idades mais avançadas, o fato é atribuído as defesas internas do corpo do hospedeiro serem mais eficazes quando se é mais desenvolvido, causando assim mais facilmente a morte dos ovos ou larvas do parasitoide dentro do corpo do mesmo (KHAFAGI e HEGAZI, 2004).

O ciclo de vida de *T. howardi* foi maior nas pupas mais jovens até as pupas de 48h, onde tiveram seu mais longo desenvolvimento, a partir de então esse número foi decrescendo, esse fato pode ser explicado pela ação do mecanismo de defesa do hospedeiro que são as toxinas produzidas e a taxa de encapsulação, que devido ao elevado custo metabólico não funciona por muito tempo, fazendo com que a resposta imune do hospedeiro seja menor em indivíduos mais desenvolvidos (SCHMIDT et al., 2001; SCHMID-HEMPEL, 2005).

A progênie produzida por pupa oscilou entre as idades testadas, entretanto obteve as maiores médias nas idades de 24 à 72 horas, tendo pico em 72 horas. Esses dados demonstram que as pupas muito jovens como as de 12 horas e as mais velhas como as de 96 não possuem qualidade fisiológica e nutricional como as de idades medianas (VINSON e IWANTSCH, 1980). Algo parecido ocorreu quando o parasitoide *Palmistichus elaeisis* Delvare e LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) foi testado parasitando o hospedeiro alternativo *Bombyx mori* L., 1758 (Lepidoptera: Bombycidae) em várias idades (PEREIRA et al., 2010).

A razão sexual foi mais elevada nas idades menores, esse fator contribui para a recomendação de não optar pela utilização de pupas com idade mais elevada, assim como pode ser observado com pupas de *B. mori* (PEREIRA et al., 2009).

A longevidade de machos e fêmeas de *T. howardi* analisados obtiveram maiores resultados em pupas de 96 horas, porém em todas as idades os parasitoides testados viveram mais de 20 dias, demonstrando uma característica satisfatória (PASTORI et al., 2012; GLAESER, 2011, GRANCE, 2010; FÁVERO, 2009).

A largura da cápsula cefálica de fêmeas e machos foram maiores em indivíduos originados de pupas de 48 horas. As fêmeas de parasitóides maiores, tem a vantagem de viver mais tempo, sem alimento (ELLERS et al., 1998), além de apresentarem maior potencial reprodutivo (HOHMANN e LUCK, 2004). Entretanto, machos maiores apresentam longevidade maior e conseqüentemente, mais eficiência no acasalamento (SAGARRA et al., 2001; GRANCE, 2010; GLAESER, 2011).

As características biológicas avaliadas de *T. howardi* foram afetados negativamente pelo aumento da idade do hospedeiro alternativo *T. molitor*. De maneira geral, *T. howardi* expressou as melhores características biológicas (maior porcentagem de parasitismo e emergência), quando foram utilizadas pupas de *T. molitor* com 24 horas de idade.

A contribuição prática desse trabalho para a multiplicação de *T. howardi* seria a possibilidade de sincronizar as criações de parasitoide e hospedeiro, para facilitar a rotina de um laboratório de multiplicação de inimigos naturais ou de uma biofábrica. Quando se tem uma determinada faixa de idade favorável de pupa de um hospedeiro para multiplicação de um parasitoide, é possível prever resultados para sua utilização.

Conclusões

Pupas do hospedeiro alternativo *T. molitor* com a idade de 24 horas foram as mais adequadas para a criação de *T. howardi*.

Agradecimentos

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão de bolsa de estudo. E ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelos recursos cedidos a execução deste trabalho.

Referências Bibliográficas

CHAO-DONG, Z.; DA-WEI, H. A Taxonomic Study on Eulophidae from Zhejiang, China (HYMENOPTERA: CHALCIDOIDEA). **Acta Zootaxonomica Sinica**. v. 26, n.4, p. 533-547, 2001.

CRUZ, I.; REDOAN, A.C.; SILVA, R.B.; FIGUEIREDO, M.L.C.; PENTEADO-DIAS, A.M. New record of *Tetrastichus howardi* (Olliff) as a parasitoid of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) on maize. **Scientia Agricola** v. 68, n.4, p. 252-254, 2011.

ELLERS, J.; VAN ALPHEN, J.J.M.; SEVENSTER, J.G. A field study of size-fitness relationships in the parasitoid *Asobara tabida*. **Journal of Animal Ecology**, v.67, n.1, p.318-324, 1998.

FÁVERO, K. **Biologia e Técnicas de Criação de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) e *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)**. 2009. 63p. Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920p.

GLAESER, D. F. **Características biológicas e comportamentais de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) criado em pupa de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)**. Dourados, MS. UFGD. 2011. Tese (Doutorado em Agronomia – Produção Vegetal) - Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD. Dourados, MS. 2011.

GONZÁLEZ, J. F. Á. **Estudios bioecológicos, reproducción artificial y liberación de *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoide pupal de *Diatraea saccharalis* (Fab.) en Cuba**. Tesis para aspirar al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar Universidad Central de Las Villas. Santa Clara. 2004.

GODFRAY, H.C.J., 1994. Parasitoids: Behavioral and evolutionary ecology. Princeton, Princeton University Press, 488p.

GRANCE, E.L.V. **Potencial de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar**. Dourados, MS. UFGD. 2010. Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) – Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD. Dourados, MS. 2010.

GRANCE, E. L. V.; PEREIRA, F. F. ; TAVARES, M. T. ; PASTORI, P. L. . Record of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Diatraea* sp. (Lepidoptera: Crambidae) in sugarcane crop in Brazil. **Entomotropica**. v. 26, n.3, p. 143 - 146. 2011.

HOHMANN, C.L.; LUCK, R.F. Effect of host availability and egg load in *Trichogramma platneri* Nagarkatti (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and its consequences on progeny quality. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.47, n.1, p.413-422, 2004.

KFIR, R. Parasitoids of *Plutella xylostella* (Lep.: Plutellidae) in South Africa: An annotated list. **Entomophaga**. v.42, n.4, p.517-523, 1997.

KFIR, R.; GOUWS J.; MOORE, S.D. Biology of *Tetrastichus howard* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae): A Facultative hyperparasitoid of stem borers. **Biocontrol Science and Technology**. v.3, n.1, 149-159, 1993.

KHAFAGI, W. E.; HEGAZI, A. E. M. Is the host or the parasitoid in control? : effects of host age and temperature on pseudoparasitization by *Microplitis rufiventris* in *Spodoptera littoralis*. **Journal of Insect Physiology**. v. 50, n.1, p. 577–584, 2004.

NOYES, J.S. 2003. Universal Chalcidoidea Database. Disponível em <http://www.nhm.ac.uk/entomology/chalcidoids/index.html> [acessada em 10.jan.2013]

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. 635 p.

PASTORI, P. L.; ZANUNCIO, J. C.; SILVA, R. O.; PEREIRA, F. F.; Azambuja, R.; PEREIRA, J. M. M. Reprodução de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) em Pupas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) em Relação à Idade do Parasitoide e Hospedeiro. **Entomo Brasilis**. v.5, n.1, p. 37 – 42, 2012.

PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; SERRÃO, J. OLIVEIRA, H.N.; FÁVERO, K.; GRANCE, E.L.V. Progenie de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) Parasitando Pupas de *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) de Diferentes Idades. **Biological Control**. v.38, n.5, p. 660 – 664, 2009.

PEREIRA, F.F.; ZANUNCIO, T.V.; ZANUNCIO, J.C.; PRATISSOLI, D.; TAVARES, M.T. Species of Lepidoptera Defoliators of Eucalyptus as New Host for the Parasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). **Brazilian Archives of Biology and Technology: an International Journal**. v.51, n.1, p. 259-262, 2008.

PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; PASTORI, P. L.; CHICHERA, R. A.; ANDRADE, G. S.; SERRÃO, J. Reproductive biology of *Palmistichus elaeisis*

(Hymenoptera: Eulophidae) with alternative and natural hosts. **Zoologia**, v. 27, n.6, p. 887-891, 2010.

SAGARRA, L. A.; VICENT, C.; STEWART, R. K. Body size as an indicator of parasitoid quality in male and female *Anagyrus kamali* (Hymenoptera: Encyrtidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 91, n.1, p. 363-367, 2001.

SCHMID-HEMPEL, P. Evolutionary ecology of insect immune defenses. **Annual Review of Entomology**. v. 50, n.23, p. 529-551, 2005.

SCHMIDT, O.; THEOPOLD, V.; STRAND, M.R. Innate immunity and its evasion and suppression by Hymenoptera endoparasitoid. **Bioessays**. v. 234, n.1, p.344-351, 2001.

WANG, X. G; LIU, S. S. Effects of host age on the performance of *Diadromus collaris*, a pupal parasitoid of *Plutella xylostella*. **Biological Control**. v. 4, n.1, p. 293-307, 2002.

VINSON, S.B. e G.F. IWANTSCH. Host suitability for insect parasitoids. **Annual Review of Entomology**. v.25, n.1, p. 397-419, 1980.

ZAMPERLINE, B.; ZANUNCIO, J.C.; Influência da alimentação de *Tenebrio molitor* L. 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae) no desenvolvimento ninfal de *Podisus connexivus* Bergroth, 1891 (Hemiptera: Pentatomidae). **Revista Árvore**, v. 16, n.2, p.224-230, 1992.

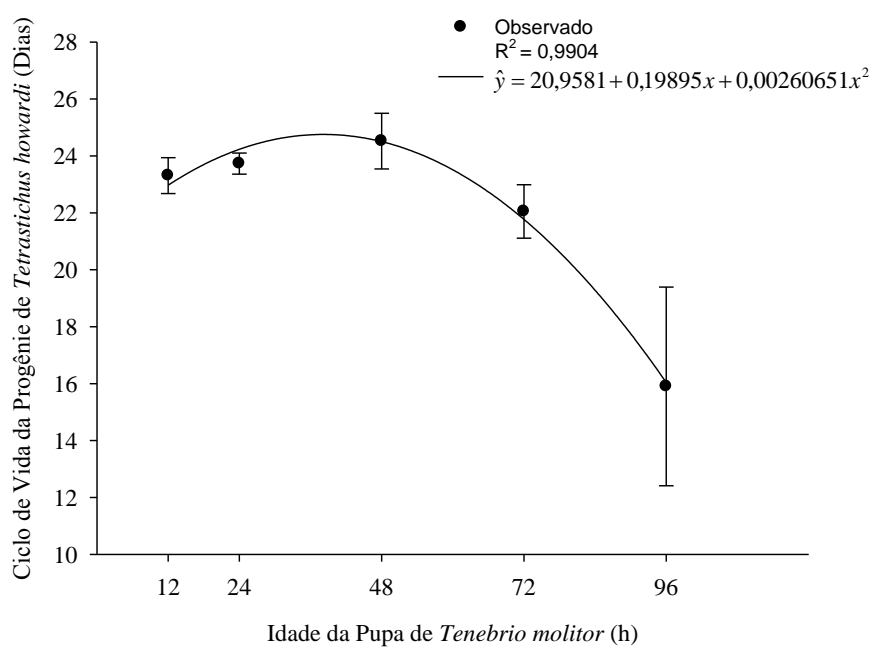


Figura 1 : Duração do ciclo (ovo-adulto) de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) criados em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) com 12, 24, 48, 72, 96 horas de idade a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$, e fotofase de 14 horas ($F=3,3332$ e $P=0,1729$).

Tabela 1. Características biológicas (média¹ ± erro padrão) de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) criados em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera:Tenebrionidae), nas idades de 12, 24, 48, 72 e 96 horas, em laboratório a 25 ± 2°, 75 ± 10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas.

| Características Biológicas | Idade das Pupas de <i>Tenebrio molitor</i> | | | | |
|-----------------------------------|--|-----------------|-----------------|---------------------|---------------------|
| | 12h | 24h | 48h | 72h | 96h |
| Parasitismo | 70,00 ± 6,15b | 88,00 ± 4,42b | 52,00 ± 6,11a | 54,00 ± 6,00a | 42,00 ± 6,29 a |
| Emergência | 44,00 ± 7,18 a | 76,00 ± 6,53 c | 36,00 ± 4,99 a | 54,00 ± 6,00 b | 24,00 ± 5,81 a |
| Progênie/Pupa | 79,41 ± 8,52 a | 112,19 ± 8,72 b | 108,40 ± 16,37b | 119,26 ± 13,31b | 60,20 ± 17,96 a |
| Razão Sexual | 0,901 ± 0,01 a | 0,895 ± 0,01 a | 0,785 ± 0,05 a | 0,826 ± 0,05 a | 0,653 ± 0,14 a |
| Fêmeas/Fêmeas | 70,617 ± 7,94 a | 99,52 ± 7,15 a | 84,534 ± 15,5a | 95,408 ± 12,67 a | 56,117 ± 16,62 a |
| Longevidade da Fêmea (dias) | 31,55 ± 2,68b | 30,05 ± 2,23b | 25,35 ± 2,61b | 25,95 ± 1,77 b | 37,35 ± 2,80a |
| Longevidade do Macho (dias) | 32,30 ± 1,70b | 26,25 ± 1,57c | 23,95 ± 1,62c | 24,85 ± 2,30 c | 45,20 ± 1,91a |
| Cápsula Cefálica da Fêmea (mm) | 0,429 ± 0,01b | 0,426 ± 0,01b | 0,53 ± 0,02 a | 0,508 ± 0,02a | 0,437 ± 0,01 b |
| Cápsula Cefálica do Macho (mm) | 0,37 ± 0,01b | 0,357 ± 0,01b | 0,42 ± 0,2 a | 0,40 ± 0,01a | 0,361 ± 0,02 b |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Capítulo III

Desempenho reprodutivo de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) no hospedeiro natural *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) após três gerações em hospedeiro alternativo *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae)

Desempenho reprodutivo de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) no hospedeiro natural *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) após três gerações em hospedeiro alternativo *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae)

Resumo: A sucessiva criação de parasitoides em hospedeiro alternativo pode afetar sua qualidade biológica. Este trabalho teve como objetivo avaliar se a multiplicação de *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) por três gerações no hospedeiro alternativo *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae) afeta seu desempenho reprodutivo quando criado em seu hospedeiro natural *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). Dois grupos de *T. howardi* foram multiplicados, separadamente, por três gerações, um no hospedeiro alternativo *T. molitor* e outro no hospedeiro natural *D. saccharalis*. Na seqüência, 50 pupas de *D. saccharalis* foram expostas por 72 horas ao parasitismo de fêmeas de *T. howardi*, criado anteriormente em pupas de *T. molitor* e de *D. saccharalis*. A criação sucessiva de *T. howardi* no hospedeiro alternativo não influenciou o número de pupas parasitadas e de pupas com emergência de parasitoides no hospedeiro natural *D. saccharalis* e contribuiu para o aumento de progênie por pupa, com indivíduos maiores e maior longevidade de fêmeas e de machos. A razão sexual encontrada foi a mesma nas duas condições testadas. *T. howardi* pode ser criado no hospedeiro alternativo *T. molitor* por três gerações, sem comprometer seu desempenho reprodutivo ao ser criado posteriormente no hospedeiro natural *D. saccharalis*.

Palavras-chave: parasitoides, pupas, qualidade biológica.

Reproductive performance of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) in the natural host *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) after three generations in alternative host *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae)

Abstract: The successive rearing of alternative host for parasitoids may affect its biological quality. This study objective was assess the multiplication of *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) after three generations in alternative host *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae) and verify how it's affects their reproductive performance when rearing in its natural host *Diatraea saccharalis* (Fabricius , 1794) (Lepidoptera: Crambidae). Two groups of *T. howardi* were multiplied separately for three generations, an alternative host in *T. molitor* and in another natural host *D. saccharalis*. Subsequently, 50 pupae of *D. saccharalis* were exposed for 72 hours to parasitism of females of *T. howardi*, rearing earlier in pupae of *T. molitor* and *D. saccharalis*. The rearing of successive *T. howardi* in alternative host did not influence the number of parasitized pupae and pupal parasitoids emergence of the natural host *D. saccharalis* and contributed to the increase of progeny per pupa, with larger longevity of females and males. The sex ratio found was the same in both conditions tested. *T. howardi* can be rearing in alternative host *T. molitor* for three generations, without compromising their reproductive performance to be rearing later in the natural host *D. saccharalis*.

Keywords: parasitoids, pupae, biological quality.

Introdução

Os parasitoides desempenham papel importante na fauna neotropical, regulando as populações de outros insetos. Muitas espécies de himenópteros parasitoides são utilizadas no controle biológico e/ou integrado de pragas agrícolas com sucesso (PERIOTO et al., 2002). Trabalhos vêm sendo desenvolvidos com parasitoides visando o controle de diversos insetos em várias culturas, como é o caso da utilização de parasitoides para o controle de *D. saccharalis* em cana de açúcar (PINTO et al., 2006).

O parasitoide larval e pupal *T. howardi* tem causado interesse quanto ao seu possível sucesso de utilização como inimigo natural de *D. saccharalis*, por ter sido encontrado parasitando diversas espécies de lepidóptera, inclusive *D. saccharalis* (KFIR et al., 1993; GONZÁLEZ, 2004; GRANCE et al., 2012; CRUZ et al., 2011). Porém, para sua criação massal, a utilização do hospedeiro natural requer alto custo de produção, portanto o uso de um hospedeiro alternativo seria interessante (RAMALHO e DIAS, 2003).

A escolha do hospedeiro alternativo mais adequado é o primeiro passo no processo de produção massal de parasitoides, pois as características físico-químicas particulares de cada hospedeiro podem afetar tanto a aceitação quanto a adaptação da espécie e/ou linhagem do parasitóide, interferindo nas características biológicas, comprometendo assim a qualidade e eficiência do mesmo (MONJE et al., 1999). Muitos insucessos na utilização de parasitoides ocorreram pela falta de conhecimentos básicos durante a criação massal, como as interações entre parasitóide e hospedeiro (PRATISSOLI et al., 2010).

Porém, a adequabilidade destes hospedeiros alternativos pode ser variável, sendo a escolha do hospedeiro de criação de suma importância na etapa de criação em laboratório, pois a escolha inadequada poderá comprometer o programa de controle biológico (DIAS et al., 2010).

O hospedeiro alternativo *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae) pode ser uma opção viável para o estabelecimento de criações de *T. howardi*, pois além de ser criado com baixo custo de produção e mão de obra, (ZANUNCIO et al., 2008) o parasitoide já foi relatado parasitando indivíduos da família Tenebrionidae (CHAO-DONG e DA-WEI, 2001).

Trabalho realizado com o parasitoide *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) criado por seis gerações nos hospedeiros alternativos *Bombyx mori* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Bombycidae) e *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) e posteriormente criado no hospedeiro natural *Thyrinteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae) demonstrou que o desenvolvimento e reprodução de *P. elaeisis* em pupas do hospedeiro natural *T. arnobia* não foi afetado (PEREIRA et al., 2010).

O objetivo desse trabalho foi avaliar se a criação de *T. howardi* por três gerações no hospedeiro alternativo *T. molitor* afeta seu desempenho reprodutivo, quando criado posteriormente em pupa de *D. saccharalis*.

Material e Métodos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Entomologia e Controle Biológico (LECOBIOL) da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, com as seguintes etapas:

Criação do hospedeiro alternativo *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae)

As larvas foram mantidas em bandejas plásticas de 29 x 23 x 11cm e alimentadas com farelo de trigo (97%), levedo de cerveja (3%) e fatias de chuchu (ZAMPERLINE e ZANUNCIO, 1992), couve, cana-de-açúcar ou pepino, para suplementar a alimentação.

Criação do hospedeiro natural *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)

Ovos de *D. saccharalis* foram obtidos da criação do Laboratório de Entomologia/Controle Biológico (LECOBIOL). Após a eclosão, as lagartas desse lepidóptero foram colocadas em potes telados com dieta artificial modificada de Hensley e Hammond (1968), a base de farelo de soja, germe de trigo, vitaminas e sais minerais (Anexo A) onde permaneceram até a formação de pupas. As pupas foram recolhidas destes potes, sexadas e colocadas em gaiolas de PVC até a formação de adultos (PARRA, 2007).

Criação de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae)

Adultos de *T. howardi* foram mantidos em tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro e 8,5 cm de altura) vedados com algodão alimentados com gotículas de mel puro. Para

manutenção da criação, pupas de *T. molitor* com 24 a 48 horas foram expostas ao parasitismo por 72 horas. Após esse período as pupas parasitadas foram individualizadas e mantidas em sala climatizada até a emergência de adultos, conforme metodologia adaptada para criação do parasitoide *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) (PEREIRA et al., 2008; PEREIRA et al., 2010).

Desenvolvimento experimental

Tetrastichus howardi foi criado por uma geração em pupas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) (hospedeiro neutro para eliminar um possível condicionamento ao hospedeiro de criação) e os descendentes foram então divididos em dois grupos e multiplicados, separadamente, por três gerações, sendo um grupo no hospedeiro alternativo *T. molitor* e outro no hospedeiro natural *D. saccharalis*. Após as três gerações, os descendentes de cada grupo foram expostos separadamente em grupo de 50 fêmeas (alimentadas com gotículas de mel) à pupas individualizadas de *D. saccharalis* (pesadas e sexadas), por 72 horas. Mantidas em sala climatizada a temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$, umidade relativa de $70\% \pm 10$, e fotofase de 14 horas, para a emergência dos adultos desse parasitoide.

Foram avaliadas, a duração do ciclo de vida (ovo-adulto), a porcentagem de parasitismo (avaliação do número de pupas parasitadas por tratamento descontando-se a mortalidade natural do hospedeiro; individualizando pupas nas mesmas condições utilizadas no experimento, porém sem serem expostas ao parasitismo, aguardando a emergência de adultos), a porcentagem de emergência (número de pupas com emergência da progênie), número de parasitoides emergidos, a razão sexual (RS= número de fêmeas/ número de adultos), a longevidade média em dias (para avaliação dessa variável foram selecionados ao acaso, no dia de sua emergência, 20 fêmeas e 20 machos de *T. howardi* de cada tratamento, individualizados em tubos de ensaio contendo uma gota de mel, onde permaneceram até a sua morte), a largura da cápsula cefálica (para avaliação dessa característica foram escolhidos ao acaso em cada tratamento, 20 fêmeas e 20 machos de *T. howardi*, visando medir a largura da cápsula

cefálica em ocular micrométrica). O sexo dos parasitoides foi determinado de acordo com características morfológicas da antena (KFIR et al., 1993).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com dois tratamentos representados por *T. howardi* após ser criado em cada hospedeiro (*T. molitor* ou *D. saccharalis*), cada um com 10 repetições. Sendo cada repetição representada por cinco pupas individualizadas em tubos de vidro, totalizando cinquenta pupas por tratamento. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a 5% de probabilidade. Devido ao fato de se possuir somente dois tratamentos o resultado do teste F é conclusivo.

Resultados

De maneira geral a criação sucessiva de *T. howardi* em pupas do hospedeiro alternativo *T. molitor* e posterior criação no hospedeiro natural *D. saccharalis* não afetou negativamente as características biológicas avaliadas. Observou-se 100,00% de parasitismo e de emergência em ambos os tratamentos, indicando que de todas as pupas parasitadas emergiram descendentes.

A progênie ($F=0,74$ e $P=0,39$), a duração do ciclo ($F=20,49$ e $P=0,0003$); o número de fêmeas produzidas por fêmeas ($F= 0,64$ e $P= 0,43$); o tamanho da cápsula cefálica, fêmeas ($F=0,47$ e $P=0,49$) e machos ($F=0,29$ e $P=0,59$); a longevidade de fêmeas ($F=8,05$ e $P=0,007$) e machos ($F= 4,07$ e $P= 0,05$) de indivíduos que emergiram de pupas de *D. saccharalis*, após sucessivas gerações em *T. molitor* foram maiores do que os originados de sucessivas gerações em *D. saccharalis*. A razão sexual encontrada foi a mesma nas duas condições testadas ($0,94 \pm 0,003$) ($F=0,000$ e $P=0,99$) (Tabela 1).

Discussão

A criação por três gerações de *T. howardi* no hospedeiro alternativo *T. molitor* não influenciou a qualidade biológica dos parasitoides produzidos, esse fato pode ser explicado pelas taxas de parasitismo, emergência, progênie, duração do ciclo, número de fêmeas produzidas por fêmeas, tamanho da cápsula cefálica (de machos e fêmeas),

longevidade (de machos e fêmeas) dos indivíduos originados não serem afetadas, essas características citadas são componentes de qualidade de parasitoides (PREZOTTI et al., 2002).

Esse fato assemelha-se ao estudo realizado com o parasitoide pupal *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) que não teve seu desenvolvimento comprometido em pupas do hospedeiro natural *Thyrintaina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae) após ter sido criado por sucessivas gerações nos hospedeiros alternativos *Anticarsia gemmatalis* Hubner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) ou *Bombyx mori* Linnaeus, 1758, (Lepidoptera: Bombycidae) (PEREIRA et al., 2010).

A utilização de hospedeiro alternativo na criação sucessiva de *T. howardi* contribuiu para o aumento dos índices de duração de ciclo, de progênie por pupa, de cápsula cefálica de fêmeas e machos, de longevidade de fêmeas e machos. Ao contrário dos dados obtidos neste trabalho, a criação do parasitoide *Catolaccus grandis* Burks, 1954 (Hymenoptera: Pteromalidae), principal inimigo natural do bicudo do algodoeiro *Anthonomus grandis* Boheman 1843 (Coleoptera: Curculionidae), apresentou menor desempenho quando se utilizou os hospedeiros alternativos *Euscepes postfasciatus* (Fairmaire, 1849) (Coleoptera: Curculionidae) e *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Chrysomelidae), entretanto os hospedeiros alternativos utilizados foram considerados viáveis para a produção de *C. grandis* (RAMALHO et al., 2003). Demonstrando que *T. molitor* pode ser considerado um excelente hospedeiro alternativo para *T. howardi*, pois este parasitoide obteve melhores resultados quando comparado ao hospedeiro natural.

Além do bom desempenho de *T. molitor* observado neste trabalho, o baixo custo é uma das características mais atraentes deste hospedeiro, como relatado obtendo custo menor que a metade do custo utilizado com o hospedeiro natural *D. saccharalis* (OTUKA et al., 2006).

As características biológicas e o desempenho reprodutivo de *T. howardi* não foram afetados negativamente pela criação sucessiva durante três gerações no hospedeiro alternativo *T. molitor* e posterior criação no hospedeiro natural *D. saccharalis*. Este fato é de extrema relevância para a multiplicação e manutenção de *T.*

howardi em laboratório, pois a criação de *T. molitor* é de baixo custo e na ausência de pupas de *D. saccharalis*, *T. howardi* pode ser multiplicado no hospedeiro alternativo *T. molitor* obtendo características satisfatórias.

Conclusões

Tetrastichus howardi pode ser criado no hospedeiro alternativo *T. molitor* por três gerações, sem comprometer seu desempenho reprodutivo ao ser criado posteriormente no hospedeiro natural *D. saccharalis*.

Agradecimentos

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão de bolsa de estudo. E ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelos recursos cedidos a execução deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHAO-DONG, Z.; DA-WEI, H. A Taxonomic Study on Eulophidae from Zhejiang, China (HYMENOPTERA: CHALCIDOIDEA). **Acta Zootaxonomica Sinica**. v. 26, n.4, p. 533-547, 2001.

CRUZ, I.; REDOAN, A.C.; SILVA, R.B.; FIGUEIREDO, M.L.C.; PENTEADO-DIAS, A.M. New record of *Tetrastichus howardi* (Olliff) as a parasitoid of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) on maize. **Scientia Agricola** v.68, n.2, p. 252-254, 2011.

DIAS, N. S.; PARRA, J. R. P.; DIAS, C. T. S. Tabela de vida de fertilidade de três espécies neotropicais de Trichogrammatidae em ovos de hospedeiros alternativos como critério de seleção hospedeira. **Revista Brasileira de Entomologia**. v. 54, n.1, p. 120–124, 2010.

GONZÁLEZ, J. F. Á. **Estudios bioecológicos, reproducción artificial y liberación de *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoide pupal de *Diatraea saccharalis* (Fab.) en Cuba**. Tesis para aspirar al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar Universidad Central de Las Villas. Santa Clara. 2004.

GRANCE, E.L.V. **Potencial de *Trichospilus diatraeae* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) para o controle de *Diatraea saccharalis* (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) em cana-de-açúcar**. Dourados, MS. UFGD. 2010. Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) – Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD. Dourados, MS. 2010.

HENSLEY, S. D.; HAMMOND, A. H. Laboratory techniques for rearing the sugar cane borer on an artificial diet. **Journal Economy Entomology**, v. 61, n.1, p. 1742-1743, 1968.

KFIR, R.; GOUWS J.; MOORE, S.D. Biology of *Tetrastichus howard* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae): A Facultative hyperparasitoid of stem borers. **Biocontrol Science and Technology**. v.3, n.1, 149-159, 1993.

MONJE, J.C.; ZEBITZ, C.P.W.; OHNESORGE, B. Host and host age preference of *Trichogramma galloi* and *T. pretiosum* (Hym.:Trichogrammatidae) reared on different hosts. **Journal Economical of Entomology**. v.92, n.4, p. 97-103, 1999.

OTUKA, A.K.; VACARI, A.M.; MARTINS, M.I.E.G.; BORTOLI, S.A. De. Custo de produção de *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) criado com diferentes presas. **O Biológico**, v.68, n.1, p.224-227, 2006.

PARRA, J. R. P. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. 6ª ed. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 2007.

PEREIRA, F.F.; ZANUNCIO, T.V.; ZANUNCIO, J.C.; PRATISSOLI, D.; TAVARES, M.T. Species of Lepidoptera Defoliators of Eucalyptus as New Host for the Parasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). **Brazilian Archives of Biology and Technology: an International Journal**. v.51, n.1, p. 259-262, 2008.

PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; PASTORI, P. L.; CHICHERA, R. A.; ANDRADE, G. S.; SERRÃO, J. Reproductive biology of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) with alternative and natural hosts. **Zoologia**, v. 27, n.6, p. 887-891, 2010.

PERIOTO, N. W.; LARA, R. I. R; SANTOS, J. C. C. dos; SELEGATTO, A. Himenópteros parasitoides (Insecta, Hymenoptera) coletados em cultura de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) (Malvaceae), no município de Ribeirão Preto, SP, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 46, n.1, p. 165-168, 2002.

PINTO, A. S.; GARCIA, J. F.; BOTELHO, P.S.M. Controle biológico de pragas da cana-de-açúcar. In: PINTO, A. de S.; NAVA, D. E.; ROSSI, M. M.; MALERBO-SOUZA, D. T. **Controle Biológico de pragas: na prática**. Piracicaba: CP2, 2006. 287p.

PRATISSOLI, D.; DALVI, L. P.; POLANCZYK, R. A.; ANDRADE, G. S.; HOLTZ, A. M.; NICOLINE, H. O. Características Biológicas de *Trichogramma exiguum* em Ovos de *Anagasta kuehniella* e *Sitotroga cerealella*. **Idesia**. v. 28, n.1, p 39-42, 2010.

PREZOTTI, L.; PARRA, J. R. P.; VENCOVSKI, R.; DIAS, C. T. dos S.; CRUZ, I.; CHAGAS, M. C. M. Teste de Vôo como Critério de Avaliação da Qualidade de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae): Adaptação de Metodologia. **Neotropical Entomology**, v. 31, n.1, p. 411-417, 2002.

RAMALHO, F. S.; DIAS, J. M. Efeitos de Hospedeiros Alternativos na Biologia de *Catolaccus grandis* (Burks) (Hymenoptera: Pteromalidae), Parasitoide de *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae). **Neotropical Entomology**. v. 32, n.1, p.305-310, 2003.

ZAMPERLINE, B.; ZANUNCIO, J.C.; Influência da alimentação de *Tenebrio molitor* L. 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae) no desenvolvimento ninfal de *Podisus connexivus* Bergroth, 1891 (Hemiptera: Pentatomidae). **Revista Árvore**, v. 16, n.1, p.224-230, 1992.

ZANUNCIO, J.C.; PEREIRA, F.F.; JACQUES, G.C.; TAVARES, M.T.; SERRAO, J.E. *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae), a new alternative host to rear the pupae parasitoid *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae). **The Coleopterists Bulletin**, v.62, n.1, p.64-66, 2008.

Tabela 1: Características biológicas (média \pm erro padrão) de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) após ter sido criado por três gerações em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera:Tenebrionidae) ou *D. saccharalis*, em laboratório a $25 \pm 2^\circ$, $75 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 14 horas

| Características biológicas | <i>Tetrastichus howardi</i> resultante de fêmeas criadas em pupas de <i>Tenebrio molitor</i> (média \pm EP) | n | <i>Tetrastichus howardi</i> resultante de fêmeas criadas em pupas de <i>Diatraea saccharalis</i> (média \pm EP) | n |
|---------------------------------|---|----|---|----|
| Parasitismo | 100,00 \pm 00% | 10 | 100,00 \pm 00% | 10 |
| Emergência | 100,00 \pm 00% | 10 | 100,00 \pm 00% | 10 |
| Duração do ciclo de vida (dias) | 21,00 \pm 0,18 a | 10 | 19,82 \pm 0,18 b | 10 |
| Progênie/pupa | 92,78 \pm 4,30 a | 10 | 87,52 \pm 4,30 a | 10 |
| Cápsula cefálica do macho (mm) | 0,44 \pm 0,013 a | 20 | 0,43 \pm 0,013 a | 20 |
| Cápsula cefálica da fêmea (mm) | 0,55 \pm 0,014 a | 20 | 0,54 \pm 0,014 a | 20 |
| Longevidade da fêmea (dias) | 28,20 \pm 1,85 a | 20 | 20,75 \pm 1,85 b | 20 |
| Longevidade do macho (dias) | 33,10 \pm 2,29 a | 20 | 26,55 \pm 2,29 b | 20 |
| Razão sexual | 0,94 \pm 0,003 a | 10 | 0,94 \pm 0,003 a | 10 |

Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade.

Considerações Finais

As informações obtidas nessa dissertação relacionadas ao número adequado de fêmeas do parasitoide *T. howardi* disponibilizadas por pupa do hospedeiro alternativo *T. molitor*, a idade das pupas utilizadas na multiplicação de *T. howardi* e o desempenho reprodutivo de *T. howardi* no hospedeiro natural *D. saccharalis* após ser criado por três gerações no hospedeiro alternativo *T. molitor* foram importantes para demonstrar que o parasitoide *T. howardi* se desenvolve satisfatoriamente no hospedeiro alternativo *T. molitor* o que poderá contribuir para sua utilização em Programas de Controle Biológico, especialmente de *D. saccharalis*.

ANEXO A. Dieta de Hensley e Hammond (1968) modificada para a criação de lagartas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae).

| Ingredientes | Quantidade* | Finalidade |
|---------------------|--------------|---------------------|
| Água destilada | 3800 ml | Solvente |
| Açúcar | 205,0 g | Carboidrato |
| Farelo de soja | 300,0 g | Proteína |
| Germe de trigo | 150,0 g | Protéina |
| Levedura de cana | 225,0 g | Proteína |
| Ácido ascórbico | 8,0g | Vitamina |
| Sais de Wesson | 15,0 g | Vitamina |
| Cloreto de colina | 2,0 g | Vitamina |
| Solução vitamínica* | 40,0 ml | Complexo vitamínico |
| Vita Gold | 3,0ml | Complexo vitamínico |
| Wintomylon | 1 comprimido | Anticontaminante |
| Tetraciclina | 1 comprimido | Anticontaminante |
| Formol | 6,0 ml | Anticontaminante |
| Caragenato | 65,0 g | Espessante |

* Quantidade de ingredientes para 12 frascos de vidro (capacidade para 500 ml).