

Universidade Federal da Grande Dourados
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais
Programa de Pós Graduação em
Entomologia e Conservação da Biodiversidade

PARASITISMO E DESENVOLVIMENTO DE *Tetrastichus howardi*
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EM LAGARTAS E PUPAS DE
Spodoptera frugiperda (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

Jéssica Terilli Lucchetta

Dourados-MS

Junho/2016

Universidade Federal da Grande Dourados
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais
Programa de Pós Graduação em
Entomologia e Conservação da Biodiversidade

Jéssica Terilli Lucchetta

PARASITISMO E DESENVOLVIMENTO DE *Tetrastichus howardi*
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EM LAGARTAS E PUPAS DE
Spodoptera frugiperda (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

Dissertação apresentada à Universidade
Federal da Grande Dourados (UFGD), como
parte dos requisitos exigidos para obtenção do
título de MESTRE EM ENTOMOLOGIA E
CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE.
Área de Concentração: Entomologia

Orientador Prof. Dr. Fabricio Fagundes Pereira

Dourados-MS

Junho/2016

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da UFGD

“Parasitismo e desenvolvimento de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em lagartas e pupas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)”

Por

Jéssica Terilli Lucchetta

Disertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de MESTRE EM ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE

Prof. Dr. Fabricio Fagundes Pereira
Orientador – UFGD

Profa. Dra. Cácia Leila Tigre Pereira
Membro titular – UNIGRAN

Dr. Samir Oliveira Kassab
Membro titular – UFGD

Dra. Alessandra Fequetia Freitas
Membro titular – UFGD

Dra. Rosália Azambuja
Membro titular – UFGD

Biografia da Acadêmica

Jéssica Terilli Lucchetta, natural de Marília-SP, nascida no dia 22 de março de 1988, filha de Maria Cívita Terilli Lucchetta e Ermínio Lucchetta, cursou o Ensino Fundamental na Escola Escola Municipal Clóvis Mânfió, Pedrinhas Paulista-SP, cursou o Ensino Médio na Escola Presidente Vargas, Dourados-MS, Bióloga bacharelada formada pela Universidade Federal da Grande Dourados-MS, iniciou o curso no ano de 2009, concluindo o mesmo no ano de 2013, sendo bolsista da UFGD, de iniciação científica (PIBIC) intitulada: "Antibiose de *Annona coriacea* sobre *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) e seu efeito sobre o parasitoide *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae)", em 2013. Em 2014, ingressou como estudante de mestrado no Programa de Pós Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, como bolsista da CAPES.

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 CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa que tornou possível a realização deste curso.

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.

A Dra. e grande amiga Alessandra Fequetia Freitas, pelos preciosos ensinamentos e conselhos, pelo exemplo de humanidade e caráter.

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

Aos colegas do Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, pela convivência.

Às amigas, Rosenaide Araújo, Yoanni Lima Sutier, Dalva Damaceno de Jesus, Michele Teixeira, pela companhia, pelos conhecimentos compartilhados, pela confiança e amizade verdadeira, principalmente pela animadora, divertida e inestimável companhia.

Aos demais membros da equipe do Laboratório de Entomologia, Samir Oliveira Kassab, Camila Rossoni, Antônio de Souza Silva, Nahara Gabriela Piñeyro Ferreira, pelo auxílio na criação dos insetos.

A Débora Lopes, pela eficiente ajuda no laboratório, nas criações e experimentos, pela amizade, pela generosidade e preocupações.

Ao meu esposo, Rogério Cesar Batista, pela enorme paciência, pelo aconchego, pelo apoio e compreensão, pelo incentivo, por me acompanhar nos finais de semana e feriados à faculdade durante a realização dos experimentos, pelo imenso amor dedicado a mim, pelas palavras de apoio, carinho e confiança.

Aos meus amados filhos, Gabriella Lucchetta Ferreira Costa e Rogério Filho, pelo grande amor, por proporcionar tantas alegrias, inspiração e ânimo, pela compreensão durante a minha ausência.

Aos meus nonnos, Maria Franco Terilli e Pasquale Terilli, exemplos de amor, paciência e dedicação, pela inestimável ajuda psicológica e financeira.

Aos meus nonnos, Pia Migotto Lucchetta e Marcello Lucchetta, pelo imenso amor dedicado a mim, confiança, palavras de apoio e carinho, sempre me incentivando.

Aos meus tios, Verginia Lucchetta Di Nallo, Gino Di Nallo, pelo amor, pelas conversas, pelo carinho, incentivo e pela colaboração.

Ao meu tio Raffaele Terilli, pelo amor e incentivo sempre.

Ao meu amado irmão, Níkolos Terilli Lucchetta, pelo imenso amor, palavras de apoio e carinho, dedicação, pela grande ajuda por cuidar dos meus filhos enquanto eu estudava.

A minha amiga Tatiane Kussura, pelo carinho, incentivo e pela grande ajuda na tradução para o inglês.

A amiga Tatiane Zaratini Teixeira dos Santos, pelo incentivo, palavras de apoio e carinho.

Aos meus sogros, Belchior Batista de Almeida e Aparecida de Almeida, pelo apoio e compreensão.

Aos meus cunhados, Elaine Inácio de Almeida e Rafael de Almeida, pelo amor e carinho.

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

Dedico

Ao Divino Pai Eterno,

luz da minha vida.

Aos meus nonnos maternos Maria Franco Terilli e Pasquale Terilli

& paternos Pia Migoto Lucchetta e Marcello Lucchetta,

pelo exemplo de vida, superação e pelo imenso amor por mim.

Aos meus pais Ermínio Lucchetta e Maria Cívita Terilli Lucchetta,

pela dedicação e incentivo.

À minha amada família, Rogério, Gabriella e Rogério Filho,

por todo amor, apoio e confiança.

SUMÁRIO

Resumo Geral.....	01
Introdução Geral.....	02
Revisão Bibliografica.....	04
Objetivo Geral.....	07
Hipóteses.....	07
Referências.....	08

CAPÍTULO 1. Parasitismo e desenvolvimento de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em lagartas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae).

Resumo.....	14
Introdução.....	15
Objetivo	17
Material e Métodos.....	17
Resultados.....	19
Discussão.....	20
Conclusão.....	23
Referências.....	23
ETAPA1-Tabela 1.....	27
ETAPA1-Tabela 2.....	27
ETAPA2-Tabela 1.....	28

CAPÍTULO 2. Reprodução de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera:Noctuidae) de diferentes idades.

Resumo.....	29
Introdução.....	30

Objetivo	30
Material e Métodos.....	30
Resultados.....	32
Discussão.....	32
Conclusão.....	35
Referências.....	35
Tabela 1.....	39
Figura 1.....	40

CAPÍTULO 3. *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em diferentes densidades parasitando pupas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae).

Resumo.....	41
Introdução.....	42
Objetivo	42
Material e Métodos.....	43
Resultados.....	44
Discussão.....	45
Conclusão.....	47
Referências.....	48
Tabela 1.....	53
Figura 1.....	54
Figura 2.....	55
Conclusões gerais.....	56
Considerações finais.....	56
Anexo.....	57
Normas do periódico African Entomology.....	58

Resumo Geral

Tetrastichus howardi (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide larval e pupal com potencial para ser utilizado no controle de lepidópteros-praga. O objetivo geral avaliar as características biológicas de *T. howardi* multiplicado em lagartas de diferentes instares, pupas e pré-pupas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) em função da densidade de fêmeas em condições de laboratório. Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, da Universidade Federal da Grande Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. No capítulo I, foi avaliada a reprodução de *T. howardi* em pupas de *S. frugiperda* de diferentes idades. No capítulo II, verificou-se o desenvolvimento de *T. howardi* em pupas de *S. frugiperda* expostas a diferentes densidades desse parasitoide. E no capítulo III, analisou-se o parasitismo em lagartas de diferentes instares de *S. frugiperda* e duas densidades do parasitoide. Concluiu-se de maneira geral, que fêmeas adultas de *T. howardi* conseguem parasitar e se desenvolver em pupas de *S. frugiperda* de 24 a 120 horas em condições de laboratório. Fêmeas adultas de *T. howardi* conseguem parasitar e se desenvolver em pupas de *S. frugiperda* em todas as densidades avaliadas: 1:1, 7:1, 14:1, 21:1, 28:1 ou 35:1 (parasitoide: hospedeiro) em condições de laboratório. A densidade de 21 fêmeas de *T. howardi* por pupa de *S. frugiperda* proporciona a maior quantidade de descendentes desse parasitoide em condições de laboratório. *T. howardi* é capaz de parasitar lagartas de 2°, 3°, 4°, 5°, 6° instar, pré-pupa e pupa de *S. frugiperda*. Porém, este parasitoide se desenvolveu e emergiu apenas em lagartas de 5° e 6° instar e em pré-pupa e pupa de *S. frugiperda*, sendo este o primeiro relato na literatura.

Palavras-chave: Eulofídeo, características biológicas, lagarta do cartucho do milho.

Introdução Geral

Espécies do gênero *Spodoptera* são amplamente distribuídas no mundo e das 30 espécies descritas, algumas são considerada praga de diferentes culturas de importância econômica (POGUE, 2002). Dentre elas, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) é considerada a principal praga do milho nas regiões tropicais e subtropicais das Américas (ESCRIBANO et al., 1999). *S. frugiperda* destaca-se por se alimentar em mais de 80 espécies de plantas, incluindo o algodoeiro e soja (CAPINERA, 2008).

Lagartas recém-eclodidas de *S. frugiperda* iniciam sua alimentação pela casca dos próprios ovos e em seguida, primeiramente raspam as folhas mais novas da planta, conforme elas vão crescendo começam a perfurar as folhas de milho, podendo consumir a planta por completo. No último ínstar, a larva chega a atingir 50 mm de comprimento. É comum encontrar apenas uma lagarta desenvolvida por cartucho devido seu hábito de canibalismo. Quando completamente desenvolvida, a lagarta sai do cartucho e penetra no solo, onde se transforma em pupa de cor marrom avermelhada, com aproximadamente 15 mm de comprimento (MIRANDA, 2010).

O uso indiscriminado de inseticidas químicos para controle de *S. frugiperda* vem ocasionando a resistência desse inseto na fase de lagarta, tornando cada vez mais difícil seu controle. *S. frugiperda* pode ainda atacar a base da espiga, destruindo grãos e abrindo caminho para microrganismos, e até mesmo provocando a queda da espiga (BARROS et al., 2010).

A utilização de parasitoides para o manejo de insetos considerados pragas tem se tornado alternativa promissora devido à eficiência e aos baixos custos (BARBOSA et al., 2008; FAVERO et al., 2013) e ainda por representarem menor risco ambiental (BARRAT et al., 2010). A coleta, identificação e a criação de inimigos naturais em laboratório são etapas importantes para o controle biológico aplicado (CHICHERA et al., 2012). Além disso, o conhecimento de aspectos morfológicos, comportamentais e principalmente biológicos, constituem informações básicas para selecionar espécies ou linhagens de parasitoides com potencial para o controle de insetos que ocasionam danos nas culturas (PARRA et al., 2002).

Tetrastichus howardi (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide gregário, parasitoide de pupas de várias famílias de lepidópteros, incluindo: Crambidae, no caso da *Diatraea saccharalis*, Noctuidae, com a espécie *Helicoverpa armigera* e Plutellidae, em especial com *Plutella xylostella* (KFIR et al., 1993; MOORE & KFIR 1995; KFIR 1997; BAITHA et al., 2004; HAYAT & SHAHI 2004; PRUTZ et al., 2004; DUONG et al., 2011; COSTA et al., 2014, OLIVEIRA et al., 2016).

Para que ocorra um manejo integrado de pragas de sucesso, é necessário ter a disposição os inimigos naturais para serem utilizados em campo. Para isso, é necessário manter em laboratório a criação massal destes, em condições adequadas para cada espécie, tanto do parasitoide, quanto do hospedeiro, bem como, o conhecimento de suas interações biológicas (PASTORI et al., 2008; PEREIRA et al., 2009; PEREIRA et al., 2010b; PASTORI et al., 2012a, b).

Estudos apontam que a idade da pupa do hospedeiro pode influenciar no desenvolvimento e na qualidade das mesmas, afetando diretamente o parasitoide que se nutriu dela (COSTA et al., 2013). A densidade de parasitoides/hospedeiro e o período de exposição ao hospedeiro podem afetar a capacidade de parasitismo (SAGARRA et al., 2000; BARBOSA et al., 2008; SILVA-TORRES et al., 2010a, b), a produção de progênie (FOERSTER et al., 2001; CHONG e OETTING, 2006), a razão sexual da progênie (CHOI et al., 2001), a duração do ciclo de vida (ovo-adulto) (SILVA-TORRES e MATTHEWS, 2003; BARBOSA et al., 2008; 2010) e a longevidade de adultos (SILVA-TORRES e MATTHEWS, 2003).

Assim, o conhecimento da adequação da idade da pupa e da densidade de parasitoides e período de parasitismo por hospedeiro é importante para assegurar o número e qualidade de indivíduos produzidos (COSTA et al., 2014 a, b). Vários estudos estão sendo desenvolvidos em relação a esses aspectos, em diferentes combinações de densidades e idades para encontrar uma combinação ideal para criações em laboratório (SILVA et al., 2015; PEREIRA et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2016; COSTA et al., 2014 a, b; SILVA et al., 2014).

Parasitoides têm alta especialização comportamental e fisiológica na competição por recursos, porém, aqueles que parasitam o mesmo estágio de desenvolvimento do hospedeiro podem apresentar competição interespecífica (ULYSHEN et al., 2010). Competição interespecífica entre parasitoides podem afetar seu estabelecimento ou eficácia no controle biológico de pragas alvo (YANG et al., 2013).

O fato de *T. howardi* conseguir parasitar hospedeiros, principalmente *D. saccharalis* em diversas fases de sua vida, nos motivou a investigar se fêmeas desse parasitoide conseguiriam parasitar e se desenvolver em lagartas, pré-pupas e pupas da lagarta do cartucho do milho.

Revisão bibliográfica

1. Controle Biológico

O Controle Biológico utiliza insetos para controlar outros insetos. É uma estratégia de controle de pragas e uma das mais importantes táticas do MIP, pois os inimigos naturais são responsáveis pelo equilíbrio no agroecossistema. Para implementar um programa de Controle Biológico é necessário conhecer técnicas para criação de insetos (PARRA et al. 2014).

O aumento da demanda para a produção sustentável de alimentos conjugado com uma maior restrição à aplicação de produtos químicos na agricultura, vem impulsionando o crescimento da indústria do biocontrole. Existem biofábricas que vem comercializando inimigos naturais no mundo (PARRA, 2002, RADCLIFFE et al. 2008, BUENO, 2009).

O uso de parasitoides como alternativa para o controle de pragas exige que os mesmos sejam multiplicados em grandes quantidades. As criações em larga escala referem-se à produção de milhões de insetos, sendo criados de forma contínua durante todo o ano, que envolvem operações semelhantes às de uma fábrica e demandam de conhecimento básico das espécies a serem multiplicadas (PARRA e CÔNSOLI, 2009).

Para que se obtenha sucesso no uso do biocontrole com inimigos naturais e se estabeleça uma tradição em sua utilização, a confiança desses agentes deve ser condição primordial, a baixa qualidade de inimigos naturais pode resultar em propaganda negativa desse método de controle e comprometer todo um programa desenvolvido ao longo de anos de pesquisa (BUENO, 2009; PARRA et al. 2014).

O controle de qualidade, é um dos fatores determinantes do sucesso desses programas, sendo a qualidade total de um organismo definida como a sua capacidade de controlar a praga após a liberação em campo (CLARKE & MCKENZIE, 1992, van LENTEREN, 2003, SØRENSEN et al. 2012). Portanto, o objetivo do controle de qualidade é determinar se um inimigo natural, após multiplicado por gerações

sucessivas em laboratório, continua eficiente no controle de pragas (van LENTEREN, 1992a, 2003, BUENO, 2009).

Grande número de testes de laboratório tem sido conduzidos objetivando monitorar a qualidade de inimigos naturais, com base principalmente em parâmetros biológicos. Os testes envolvem a avaliação dos seguintes componentes de qualidade: número de adultos emergidos, razão sexual, fecundidade, longevidade, tamanho do adulto, atividade de vôo e desempenho em campo (van LENTREN, 1992b, 2003, VREYSEN & ROBINSON, 2010).

As características biológicas do parasitoide podem ser influenciadas pela idade, densidade, espécie de parasitoides e hospedeiros, além dos fatores abióticos como temperatura, umidade relativa do ar e fotoperíodo (COSTA LIMA et al. 2009, SILVA-TORRES et al. 2009, SILVA-TORRES et al. 2010 a, PEREIRA et al. 2011, CHICHERA et al. 2012, PASTORI et al. 2012, SØRENSEN et al. 2012, RODRIGUES et al. 2013, FAVERO et al. 2013, CALADO et al. 2014).

Himenópteros parasitoides podem ser ectoparasitoides ou endoparasitoides são importantes inimigos naturais de insetos-praga. Um grande número de espécies são utilizadas no controle biológico aplicado, principalmente devido a especificidade e facilidade de criação em laboratório (CHERIAN & SUBRAMANIAM, 1940, GIBSON, 1993, GAUTHIER et al. 2000, PARRA, 2002, HESAMI et al. 2010, GENÇER, 2012, van LENTEREN, 2012).

Dentre os himenópteros, destacam-se aqueles pertencentes à família Eulophidae que apresenta cerca de 4.472 espécies, constituída por insetos pequenos entre 0,4 a 0,6mm de comprimento. E está subdividida em quatro subfamílias: Entedoninae, Eulophinae, Entiinae e Tetrastichinae (UBAIDILLA, 2006, LA SALLE e POLASZEK, 2007, BURKS et al. 2011).

2. *Tetrastichus howardi*

Tetrastichus howardi é um endoparasitoide gregário e polífago, pertencente a família Eulophidae que foi coletado em plantio de cana-de-açúcar em Dourados-MS, parasitando pupas de *Diatraea* sp. (Lepidoptera: Crambidae) e criado no Laboratório de Entomologia/Controle Biológico da Faculdade de Ciências Agrárias, da Universidade Federal da Grande Dourados, em Dourados - Mato Grosso do Sul, Brasil, visando a realização de estudos sobre o seu potencial para controlar a broca-da-cana,

Diatraea saccharalis (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) entre outros insetos praga (VARGAS, 2013).

O dimorfismo sexual em *T. howardi* é evidente, principalmente pelas antenas. As fêmeas apresentam funículo das antenas pigmentado e com três segmentos, além de escapo sem placa sensorial na margem ventral. Nos machos, o funículo contém quatro segmentos, nesse caso apenas a clava é pigmentada, e o escapo apresenta uma placa sensorial na margem ventral (La Salle & Polaszek 2007). Outra característica facilmente distinguível é a cor da coxa e fêmur nas pernas anteriores, que nas fêmeas são mogno e nos machos são amarelo claro (González 2004).

3. *Spodoptera frugiperda*

Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae) é a considerada a principal praga do milho nas regiões tropicais e subtropicais das Américas (ESCRIBANO et al., 1999). Destacando-se por se alimentar em mais de 80 espécies de plantas, incluindo o algodoeiro e soja (CAPINERA, 2008). Espécies do gênero *Spodoptera* são amplamente distribuídas no mundo e das 30 espécies descritas, metade é considerada praga de diferentes culturas de importância econômica (POGUE, 2002).

Lagartas de *S. frugiperda* se alimentam da planta durante toda sua fase larval, inicialmente raspam as folhas mais novas da planta, conforme elas vão crescendo começam a perfurar as folhas de milho, podendo consumir a planta por completo. No último instar, a larva chega a atingir 50 mm de comprimento. É comum encontrar apenas uma lagarta desenvolvida por cartucho devido seu hábito de canibalismo. Quando completamente desenvolvida, a lagarta sai do cartucho e penetra no solo, onde se transforma em pupa de cor marrom avermelhada, com aproximadamente 15 mm de comprimento (MIRANDA, 2010).

Objetivo geral

Avaliar as características biológicas de *T. howardi* em diferentes densidades multiplicado em lagartas, pré-pupas e pupas de *S. frugiperda*.

Objetivos específicos

1. Avaliar a reprodução de *T. howardi* em pupas de *S. frugiperda* de diferentes idades (24, 48, 72, 96 e 120 h);
2. Determinar a melhor densidade (1:1, 7:1, 14:1, 21:1, 28:1 ou 35:1) de fêmeas de *T. howardi* por pupas de *S. frugiperda* para a multiplicação desse parasitoide em condições de laboratório;
3. Avaliar desenvolvimento biológico do parasitoide em lagartas, pré-pupas e pupas de *S. frugiperda*.

Hipóteses

H 1- A idade da pupa de *S. frugiperda* irá comprometer o parasitismo e o desenvolvimento de *T. howardi*.

H 0- A idade da pupa de *S. frugiperda* não irá comprometer o parasitismo e o desenvolvimento de *T. howardi*.

H 1- A densidade de fêmeas de *T. howardi* irá interferir nas características biológicas do parasitoide.

H 0- A densidade de fêmeas de *T. howardi* não irá interferir nas características biológicas do parasitoide.

H 1- *Tetrastichus howardi* irá parasitar e se desenvolverá em lagartas, pré-pupas e pupas de *S. frugiperda*.

H 0- *Tetrastichus howardi* não irá parasitar e não se desenvolverá em lagartas, pré-pupas e pupas de *S. frugiperda*.

Referências

- BAITHA, A.; JALALI, S. K.; RABINDRA, R. J.; VENKATESAN, T. Parasitizing efficiency of the pupal parasitoid, *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) on *Chilo partellus* (Swinhoe) at different exposure periods. **Journal of Biological Control**, v.18, p.65-68, 2004.
- BARBOSA, L. S.; COURI, M. S.; COELHO, V. M. A. Influência do aumento do número de pupas hospedeiras de *Cochliomyia macellaria* (Diptera, Calliphoridae) no desenvolvimento do parasitoide *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera, Pteromalidae) em laboratório. **Iheringia Série Zoologia**, v.98, n.3, 2008.
- BARBOSA, L. S.; COURI, M. S.; COELHO, V. M. A. Desempenho do parasitoide *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae) utilizando como hospedeiro *Cochliomyia macellaria* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae), sob diferentes tempos de exposição. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 54, p.125-129, 2010.
- BARROS, E. M.; TORRES, J.B.; BUENO, A. F. Oviposição Desenvolvimento e Reprodução de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em Diferentes Hospedeiros de Importância Econômica. **Neotropical Entomology**, v.39, p.996-1001, 2010.
- BARRAT, B. I. P.; HOWARTH, F. G.; WITHERS, T. M.; KEAN, J. M.; RIDLEY, G. S. Progress in risk assessment for classical biological control. **Biological Control**, v. 52, p. 245-254, 2010.
- BUENO, V.H.P. **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Lavras: Editora UFLA, p. 169-197, 2009.
- BURKS, R. A., HERATY, J. M., GEBIOLA, M., HANSSON, C. Combined molecular and morphological phylogeny of Eulophidae (Hymenoptera: Chalcidoidea), with focus on the subfamily Entedoninae. **Cladistics**, v.27, p. 581-605. 2011.
- CALADO, V. R. F.; PEREIRA, F. F.; VARGAS, E. L.; GLAESER, D. F.; OLIVEIRA, F. G. Características biológicas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) nos hospedeiros *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) e *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae), **Biotemas**, v. 27, p. 71-77, 2014.
- CAPINERA, J. L. Encyclopedia of entomology, **Springer**, Dordrecht, The Netherlands, 2008.
- CHERIAN, M.C. & SUBRAMANIAM, C.K. *Tetrastichus ayyari* Rohw – a pupal parasite of some moth-borers in South India. **Agricultural Research Institute**, v. 2, p. 75-77, 1940.
- CHICHERA, R.A.; PEREIRA, F.F.; KASSAB, S.O.; BARBOSA, R.H.; PASTORI, P. L.; ROSSONI, C. Capacidade de busca de *Trichospilus diatraeae* e *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Interciencia**, v. 37, p. 852-856, 2012.

CHONG, J. H.; OETTING, R. D. Functional response and progeny production of the Madeira mealybug parasitoid, *Anagyrus* sp. nov. nr. *sinope*: The effects of host and parasitoid densities. **Biological Control**, v. 39, p. 320-328, 2006.

CHOI, W. I.; YOON, T. J.; RYOO, M. I. Host-size dependent feeding behaviour and progeny sex ratio of *Anisopteromalus calandrae* (Hym.: Pteromalidae). **Journal Applied Entomology**, v. 125, p. 71-77, 2001.

COSTA, D. P. Interações biológicas entre *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) e *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) no parasitismo de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar, tese (doutorado em agronomia) – Universidade Federal da Grande Dourados, 2013.

COSTA, D. P.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; ROSSONI, C.; FAVERO, K.; BARBOSA, R. H. Reprodução de *Tetrastichus howardi* em pupas de *Diatraea saccharalis* de diferentes idades. **Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v.57, p.67-71, 2014, a.

COSTA, D. P.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; ROSSONI, C.; PASTORI, P. L.; ZANUNCIO, J. C.; *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) in Different Densities and Periods of Parasitismo on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) Caterpillars. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 107, p. 961-966, 2014, b.

COSTA, L. T. C.; GEREMIAS, L. D; PARRA, J. R. P. Efeito da temperatura e umidade relativa do ar no desenvolvimento de *Liriomyza sativae* Blanchard (Diptera: Agromysidae) em *Vigna unguilata*. **Neotropical Entomology**, v. 38, p. 727-733, 2009.

CLARKE, G.M. & L.J. MCKENZIE. Fluctuating asymmetry as a quality control indicator for insect mass rearing processes. **Journal Economic Entomology**, v. 85, p. 2045-2050. 1992.

ESCRIBANO, A.; WILLIAMS, T.; GOULSON, D.; RONALD, D.; JASON, C.; CHAPMAN, W.; CABALLERO, P. Selection of a Nucleopolyhedrovirus for Control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae): Structural, Genetic, and Biological Comparison of Four Isolates from the Americas, **Journal of economic entomology**, v.92, p. 85-1079, 1999.

FAVERO, K.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; OLIVEIRA, H. N.; COSTA, D. P. AND ZANUNCIO, J. C. Biological Characteristics of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) are Influenced by the Number of Females Exposed Per Pupa of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), **Florida Entomologist**, v.96, p.583-589, 2013.

FOERSTER, L. A.; DOETZER, A. K.; AVANCI, M. R. F. Parasitoides larvais de *Mythimna (Pseudaletia) sequax* Franclemont e capacidade de parasitismo de *Glyptapanteles muesebecki* (Blanchard) em relação ao tempo de exposição, temperatura e densidade de hospedeiros. **Acta Biologica Paranaense**, v. 30, p. 139-149. 2001.

- GAUTHIER, N.; LASSALE, J.; QUICKE, D. L. J.; GODFRAY, H. C. J. Phylogeny of Eulophidae (Hymenoptera: Chalcidoidea), with a reclassification of Eulophinae and the recognition that Elasmidae are derived eulophids. **Systematic Entomology**, v.25, p.521-539, 2000.
- GENÇER, L. Contributions to the Knowledge of the Eulophinae (Hymenoptera: Eulophidae) from Sivas, Turkey, with Some New Records. **Journal of the Entomological Research Society**. v.14, p. 83-89, 2012.
- GIBSON, G. A. P., Superfamilies Mymarommatoidea and Chalcidoidea. In: Goulet, H., Huber, J. T. (Eds.). **Hymenoptera of the World; an identification guide to Families**. Canada Communication Group, Ottawa, Canada. 1993. p.570-655.
- GONZÁLEZ, J.F.A. 2004. Estudios bioecológicos, reproducción artificial y liberación de *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoide pupal de *Diatraea saccharalis* (Fab.) en Cuba.. Tese (Doctor en Ciencias Agrícolas) – Universidad Central de Las Villas, Santa Clara – Cuba. 176.
- HAYAT, M.; SHAHI, M. H. Taxonomic notes on indian Eulophidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) - 1. On the types of some Tetrastichinae. **Oriental Insects**, v.38, p.303-314, 2004.
- HESAMI, S.; EBRAHIM, E.; OSTOVAN, H.; SHOJAI, M.; KAMALI, K; YEFREMOVA, Z; YEGORENKOVA, E. Contribution to the study of Eulophidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) of fars province of Iran: I Subfamilies Entedoninae and Tetrastichinae. **Munis Entomology Zoology**, v. 5, p. 157, 2010.
- 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, p. 149-159, 1993.
- KFIR, R. Parasitoids of *Plutella xylostella* (Lep.: Plutellidae) in South Africa: An annotated list. **Entomophaga**, v. 42, p. 517-523, 1997.
- LA SALLE, J.; POLASZEK, A. Afrotropical species of the *Tetrastichus howardi* species group (Hymenoptera: Eulophidae). **African Entomology**, v.15, p. 45-56, 2007.
- LENTEREN, J. C. van. Improving the reliability of biological control by applying quality control of natural enemies. **Bulletin OILB-SROP**, v.16, p. 85-88. 1992a.
- LENTEREN, J. C. van. Quality control for natural enemies used in greenhouses. **Bulletin OILB-SROP**, v.16, p. 89-92. 1992b.
- LENTEREN, J. C. van. **Quality Control and Production of Biological Control Agents: Theory and Testing Procedures**. CABI Publishing, 2003. 315 págs.
- LENTEREN, J. C. van. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. **BioControl**, v. 57, p. 1-20, 2012.
- MIRANDA, J. E. Manejo integrado de pragas do algodoeiro no cerrado brasileiro. Circular Técnica, Embrapa Algodão, Campina Grande, 36 págs, 2010.

MOORE, S. D.; KFIR, R. Host preference of the facultative hyperparasitoid *Tetrastichus howardi* (Hym: Eulophidae). **Entomophaga**, v.40, p.69-76, 1995.

OLIVEIRA, H. N.; SIMONATO, J.; GLAESER, D. F.; PEREIRA, F. F. Parasitismo of *Helicoverpa armigera* pupae (Lepidoptera: Noctuidae) by *Tetrastichus howardi* and *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, p. 11-115, 2016.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B.; BENTO, J. M. S. **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. Editora Manole: São Paulo, p. 609, 2002.

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

PARRA, J.R.P. & CÔNSOLI, F.L. Criação massal e controle de qualidade de parasitoides de ovos. In: BUENO, V.H.P. **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Lavras: Editora UFLA, p. 169-197, 2009.

PASTORI, P. L.; PEREIRA, F. F.; ANDRADE, G. S.; SILVA, R. O.; ZANUNCIO, J. C.; PEREIRA, A. I. A. Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) in pupae of two lepidopterans defoliators of eucalypt. **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 38, p. 91-93, 2012a.

PASTORI, P. L.; PEREIRA, F. F.; PRATISSOLI, D.; ZANUNCIO, J. C.; OLIVEIRA, F. A. L.; ZAIDAN, U. R. Densidade de fêmeas de *Palmistichus elaeisis* Delvare & Lasalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) para sua reprodução em pupas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 79, p. 525-532, 2012b.

PASTORI, P. L.; MONTEIRO, L. B.; BOTTON, M.; SOUZA, A.; POLTRONIERI, A. S.; SCHUBER, M. Parasitismo de ovos da lagarta-enroladeira-da-maçã em função do número de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) liberado. **Scientia Agraria**, v. 9, p. 497-504, 2008.

PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; SERRÃO, J. E.; PASTORI, P. L.; RAMALHO, F. S. Reproductive performance of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) with previously refrigerated pupae of *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 69, p. 865-869, 2009.

PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; CALADO, V. R. F.; VARGAS, E. L.; OLIVEIRA, H. N.; ZANUNCIO, J. C. Parasitism and emergence of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) larvae, pupae and adults. **Florida Entomologist**, v. 98, p. 377-379, 2015.

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 Acadadêmia Brasileira de Ciências**, v. 81, p. 323-331, 2010b.

PEREIRA, F.F.; ZANUNCIO, J.C.; OLIVEIRA, H.N.; GRANCE, E.L.V.; PASTORI, P.L.; GAVA-OLIVEIRA, M.D. Thermal requirements and estimate number of generations of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) in different *Eucalyptus* plantations regions. **Brazilian Journal of Biology**, v. 71, p. 431-436, 2011.

POGUE, G. M. A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). **Memoirs of the American Entomological Society**, v. 43, p.117-124, 2002.

PRÜTZ, G.; BRINK, A.; DETTNER, K. Transgenic insect-resistant corn affects the fourth trophic level: Effects of *Bacillus thuringiensis*-corn on the facultative hyperparasitoid *Tetrastichus howardi*. **Naturwissenschaften**, v. 91, p. 451-454, 2004.

RADCLIFFE, E.B., HUTCHISON, W.D., CANCELADO, R.E. **Integrated Pest Management: Concepts, Tactics, Strategies and Case Studies**. Cambridge University Press. 2008. 385 págs.

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

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, p. 239-244, 2000.

SILVA-TORRES, C. A; BARROS, R.; TORRES, J. B. Efeito da idade, fotoperíodo e disponibilidade de hospedeiro no comportamento de parasitismo de *Oomyzus sokolowskii* Kurdjumov (Hymenoptera: Eulophidae). **Neotropical Entomology**, v. 38, p. 512-519, 2009.

SILVA-TORRES, C. S. A.; da, MATTHEWS, R. W. Development of *Melittobia australica* Girault and *M. digitata* Dahms (Parker) (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Neobellieria bullata* (Parker) (Diptera: Sarcophagidae) puparia. **Neotropical Entomology**, v. 32, p. 645-651, 2003.

SILVA-TORRES, C. S, A.; da, PONTES, I. V. A. F.; TORRES, J. B.; BARROS, R. New records of natural enemies of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) in Pernambuco, Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 39, p. 835-838, 2010a.

SILVA-TORRES, C. S. A.; da, TORRES, J. B.; BARROS, R.; PALLINI, A. Parasitismo de traça-das-crucíferas por *Oomyzus sokolowskii*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, p. 638-645, 2010b.

SILVA, I. M.; ZANUNCIO, T. V.; PEREIRA, J. M. M.; WILCKEN, C. F.; PEREIRA, F. F.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C. Density of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae) pupae. **Bio One Entomological Society of America**, v. 107, p. 826-831, 2014.

SILVA, I. M da; ZANUNCIO, T. V.; PEREIRA, F. F.; WILCKEN, C. F.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C. Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) in the pupae of *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae). **Florida Entomologist**, v. 98, p. 1025-1029, 2015.

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

UBAIDILLA, H. R. Eulophine parasitoids of the genus *Trichospilus* in Indonesia, with the description of two new species (Hymenoptera: Eulophidae). **Entomology Science**; v. 9, p.217-222, 2006.

ULYSHEN, M. D.; DUAN, J. J.; BAUER, L. S. Interactions between *Spathius agrili* (Hymenoptera: Braconidae) and *Tetrastichus planipennisi* (Hymenoptera: Eulophidae), larval parasitoids of *Agrilus planipennis* (Coleoptera: Buprestidae). **Biological Control**, v.1, 52, p. 188-193, 2010.

VARGAS, E. L.; PEREIRA, F. F.; GLAESER, D.F; CALADO, V. R. F.; OLIVEIRA, F. G.; PASTORI, P. L. Searching and parasitism of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) by *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae). **Acta Biologica Colombiana**, v. 18, p. 259-264, 2013.

VREYSEN, M. J. B. & ROBINSON, A. S. Ionising radiation and area-wide management of insect pests to promote sustainable agriculture. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 1, p. 1-18, 2010.

YANG S, DUAN J J, LELITO J, DRIESCHE R V. Multiparasitism by *Tetrastichus planipennisi* (Hymenoptera: Eulophidae) and *Spathius agrili* (Hymenoptera: Braconidae): Implication for biological control of the emerald ash borer (Coleoptera: Buprestidae). **Biological Control**, v. 65, p. 118-123, 2013.

Capítulo 1

Parasitismo e desenvolvimento de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em lagartas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)

* Artigo formatado de acordo com as normas do periódico African Entomology, com adaptações para as normas de dissertações e teses da UFGD.

Lucchetta, J. T.¹, Pereira, F. F.¹

¹Programa de Pós Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil.

RESUMO

Tetrastichus howardi (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide gregário de lagartas e pupas de lepidópteros e tem sido estudado como agente potencial no Controle Biológico de pragas em culturas de grande importância econômica. O objetivo do trabalho foi avaliar o desempenho de *T. howardi* parasitando lagartas, pre-pupas de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes instares (2°, 3°, 4°, 5°, 6° ínstar). Foram avaliadas duas densidades, sendo elas: uma e sete fêmeas de *T. howardi*. O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). As condições experimentais foram: temperatura de 25 ± 1 °C, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 14 horas. Lagartas foram individualizadas em placas de Petri e expostas ao parasitismo por uma e sete fêmeas do parasitoide durante 24 horas. Após o parasitismo as lagartas foram alimentadas com dieta artificial até a morte ou até a formação de pupas. Na densidade 1, fêmeas de *T. howardi* parasitaram lagartas de segundo, terceiro, quarto, quinto e sexto ínstares e pré-pupa de *S. frugiperda*, porém não ocorre a emergências dos adultos. Enquanto que na densidade 7, a emergência ocorreu no 5°, 6° instar e pré-pupa. Sendo de 86.50 ± 36.45 ; 225.18 ± 16.23 e 363.27 ± 44.61 respectivamente. Com isso, podemos afirmar o potencial desse parasitoide como agente promissor para um futuro controle biológico. Sendo este o primeiro registro na literatura de *T. howardi* parasitando lagartas de *S. frugiperda* em condições de laboratório.

Palavras chave: Controle Biológico, Endoparasitoide, Parasitoide larval.

INTRODUÇÃO

O gênero *Spodoptera* possui várias espécies amplamente distribuídas no mundo e das 30 espécies descritas, algumas são consideradas praga de diferentes culturas de importância econômica (POGUE, 2002). Dentre elas, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) é a considerada a principal praga do milho nas regiões tropicais e subtropicais das Américas (ESCRIBANO et al., 1999). Destacando-se por se alimentar em mais de 80 espécies de plantas, incluindo o algodoeiro e soja (CAPINERA, 2008).

Após três dias da postura dos ovos, ocorre a eclosão das lagartas, onde essas dão início a sua alimentação pela casca dos próprios ovos, posteriormente começam a consumir as folhas de milho da cultura, o que causa um grande prejuízo econômico ao agricultor. Primeiramente a lagarta faz uma pequena raspagem nas folhas mais novas da planta, conforme elas vão crescendo começam a perfurar as folhas de milho, podendo consumir a planta por completo. Quando elas atingem o sexto ínstar, é a fase mais crítica onde ocorre um consumo maior das folhas, as lagartas nessa fase, podem chegar a 50 mm de comprimento. É comum encontrar apenas uma lagarta desenvolvida por cartucho devido seu hábito de canibalismo. Após o sexto ínstar ela pode ser considerada completamente desenvolvida, é quando a lagarta sai do cartucho do milho e penetra no solo, onde se transforma em pupa, a qual possui uma cor marrom avermelhada, com aproximadamente 15 mm de comprimento (Miranda 2010).

Os inimigos naturais geralmente parasitam o hospedeiro na fase de pupa, como a *S. frugiperda* empupa no solo, supõe-se que não seria interessante o controle biológico, já que o parasitoide não consegue atingir seu hospedeiro de baixo da terra. Porém *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) é um inimigo natural que possui um grande potencial de parasitar lagartas, como já foi constatado no parasitismo de lagartas com a espécie *Diatraea saccharalis* (Pereira 2015). Foi então que surgiu a idéia de analisar o parasitismo de *T. howardi* em lagartas de *S. frugiperda*, com o intuito de a longo prazo ocorrer um controle biológico em campo.

Himenópteros parasitoides são importantes inimigos naturais de insetos-praga, sendo utilizado grande número de espécies no Controle Biológico aplicado, principalmente devido a especificidade e facilidade de criação (Cherian & Subramaniam 1940; Parra 2002; Van Lenteren 2012). Dentre os himenópteros, destacam-se aqueles pertencentes à família Eulophidae. Eulophidae é uma das famílias mais diversas dentro de Chalcidoidea, sendo constituída de 297 gêneros e 4472 espécies distribuídas em cinco subfamílias: Entiinae, Eulophinae, Entedoninae, Tetrastichinae e Ophelminae (La Salle & Polaszek 2007).

Tetrastichus howardi (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) pertence a subfamília Tetrastichinae, é considerado um parasitoide que se desenvolve no interior de outros insetos, que ocasionam danos em culturas agrícolas, tornado-se um inimigo natural com grande potencial para ser utilizado como alternativa de controle (Baitha et al. 2004; La Salle & Polaszek 2007; Prasad et al. 2007; Vargas et al. 2011). Uma peculiaridade desse parasitoide é a sua capacidade de parasitar as fases de larva, pré-pupa, pupa e adulto do hospedeiro *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Noctuidae) (Vargas et al. 2011; Pereira et al 2015).

Os inimigos naturais podem ter como hospedeiro varias fases do inseto, como: um ovo, uma larva ou uma pupa da praga. Os parasitoides compreendem um grupo, que contém algumas das mais importantes espécies de organismos benéficos para programas de Controle Biológico (Cruz 2011).

O dimorfismo sexual em *T. howardi* é evidente, principalmente pelas antenas. As fêmeas apresentam funículo das antenas pigmentado e com três segmentos, além de escapo sem placa sensorial na margem ventral. Nos machos, o funículo contém quatro segmentos, nesse caso apenas a clava é pigmentada, e o escapo apresenta uma placa sensorial na margem ventral (La Salle & Polaszek 2007; González 2004). Outra característica facilmente distinguível é a cor da coxa e fêmur nas pernas anteriores, que nas fêmeas são mogno e nos machos são amarelo claro (González 2004).

Para que ocorra um Controle Biológico de sucesso é de grande importância a multiplicação em larga escala em laboratório dos parasitoides (Pastori et al. 2008; Pereira et al. 2009 b; Pereira et al. 2010 b; Pastori et al. 2012 b). Isso depende da disponibilidade de técnicas de multiplicação, tanto dos parasitoides quanto de seus

hospedeiros e do conhecimento de suas interações biológicas (Pastori et al. 2010; Pereira et al. 2010 a, b; Nakajima et al. 2012).

A utilização de parasitoides para o manejo de insetos considerados pragas tem se tornado alternativa promissora devido à eficiência e aos baixos custos relativos (Barbosa et al. 2008; Favero et al. 2013) e ainda por representarem menor risco ambiental (Barrat et al. 2010). Além disso, o conhecimento de aspectos morfológicos, comportamentais e principalmente biológicos, constituem informações básicas para selecionar espécies ou linhagens de parasitoides com potencial para o controle de insetos que ocasionam danos nas culturas (Parra et al. 2002).

O conhecimento da adequação da densidade de parasitoides por hospedeiro é importante para assegurar o número e qualidade de indivíduos produzidos. Investigar a biologia reprodutiva de parasitoides com métodos adequados é importante para aprimorar as técnicas de multiplicação e viabilizar os custos de produção de inimigos naturais (Pereira et al. 2009 a; Favero et al. 2013). O objetivo do trabalho foi verificar se fêmeas de *T. howardi* conseguem parasitar e se desenvolver em lagartas e pré-pupas de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), visando seu controle no campo.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, da Universidade Federal da Grande Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

Criação do hospedeiro e do parasitoide para o experimento. Criação de *S. frugiperda*. Ovos de *S. frugiperda* foram acondicionados em recipientes descartáveis contendo dieta artificial à base de feijão, germe de trigo, levedo de cerveja e anticontaminantes, (Parra 2007) para alimentação das lagartas recém-eclodidas, onde permaneceram até completarem 10 dias. Essas lagartas foram transferidas para Placas de Petri descartáveis (6,5 cm de diâmetro e 2,5 cm de altura) contendo uma porção de dieta de realimentação, até a formação das pupas. As pupas foram recolhidas das Placas de Petri e selecionadas por meio da biomassa e das características morfológicas. Posteriormente, as pupas de *S. frugiperda* foram transferidas para gaiolas de PVC (10 cm de diâmetro e 22 de altura), até atingirem a forma adulta. Adultos (20 casais) foram

mantidos nas gaiolas, as quais foram revestidas internamente com folhas de papel sulfite como substrato para oviposição. Estes tubos foram fechados com tecido do tipo 'voil' e elástico (Parra 2007). Para alimentação dos adultos foi utilizada uma solução de mel a 10%, embebidas em algodão. O papel sulfite e a solução de mel foram trocados diariamente, os ovos foram retirados e acondicionados em uma Placa de Petri, após três dias ocorreu a eclosão dos ovos e as lagartas recém-eclodidas foram colocadas nos recipientes contendo a dieta artificial citada anteriormente, assim inicia-se o ciclo novamente, que dura aproximadamente 30-40 dias no total (Parra 2007).

Criação de *T. howardi*. Adultos de *T. howardi* foram mantidos em tubos de vidro (15 × 2 cm) tampados com algodão e contendo uma gotícula de mel, que serviu como alimento para os insetos. Pupas de *D. saccharalis*, com 24 a 48 h de idade, foram expostas ao parasitismo por três fêmeas de *T. howardi* durante 24 h a 25±2 °C, umidade relativa (UR) de 70±10% e fotofase de 14 h, em câmara climatizada (Vargas et al. 2011).

Desenvolvimento experimental. Etapa 1: Lagartas de 2°, 3°, 4°, 5° e 6° de *S. frugiperda* foram expostas individualmente ao parasitismo, para duas densidades, sendo estas: uma ou sete fêmeas de *T. howardi*, período de parasitismo foi de por 24 horas. Cada tratamento foi acondicionado em recipientes plásticos (100 mL) contendo uma porção de dieta de realimentação (3 x 1,5 cm) para as lagartas e uma gotícula de mel para alimentação dos parasitoides. A dieta e o mel foram colocados diariamente. Os hospedeiros parasitados foram transferidos para tubos de vidro (1,5 x 10 cm) contendo uma gotícula de mel para alimentação, e vedados com algodão para a emergência dos adultos parasitoides. O experimento foi mantido a 25 ± 2°C, 70 ± 10% de umidade relativa (UR) e fotofase de 14 horas. A característica biológica avaliada na primeira etapa foi apenas o parasitismo, tendo em vista que a emergência dos adultos ocorreu apenas nos instares 5° e 6°.

Etapa 2: Lagartas de 5°, 6° instar e pré-pupa foram expostas ao parasitismo para duas densidades, sendo estas: uma ou sete fêmeas de *T. howardi*, período de parasitismo foi de por 24 horas, da mesma maneira que a etapa anterior. As características avaliadas foram: parasitismo [(número de lagartas de *S. frugiperda* com emergência de parasitoides + lagartas sem emergência de adultos de *S. frugiperda*)/(número total de lagartas) × 100]; a emergência [(número de lagartas de *S. frugiperda* com emergência de adultos dos parasitoides)/(número de lagartas parasitadas) × 100]; a duração do ciclo

de vida (ovo -adulto); o número de parasitoides emergidos por lagarta (progênie); progênie por fêmea; a razão sexual (número de fêmeas/número de adultos) e longevidade de machos e fêmeas. A mortalidade natural do hospedeiro foi observada nas condições do experimento, com 50 lagartas de *S. frugiperda* individualizadas em recipientes plásticos (100 mL) contendo uma porção de dieta de realimentação sem a presença de parasitoides sendo determinado o número de adultos de *S. frugiperda* emergidos. O sexo dos parasitoides foi determinado de acordo com o dimorfismo das antenas de *T. howardi* (La Salle e Polaszek 2007).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 6 tratamentos, nas densidades 1 e 7 em cada tratamento 5 repetições, cada repetição contendo dez lagartas individualizadas. Os dados das características biológicas, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a 5% de probabilidade, sendo os valores significativos, submetidos ao teste de Tukey.

RESULTADOS

O parasitismo das lagartas de *S. frugiperda* por *T. howardi* foi confirmado pela mortalidade da lagarta, pela presença de imaturos ou pela emergência dos parasitoides. Este é o primeiro relato de lagartas sendo parasitadas em condições de laboratório.

Fêmeas de *T. howardi* parasitaram lagartas de segundo, terceiro, quarto, quinto e sexto ínstaes e pré-pupa de *S. frugiperda* (Tabela 1). As lagartas de *S. frugiperda* que foram parasitadas apresentaram alteração da coloração e da consistência do corpo, que inicialmente apresentou coloração amarelada e aspecto flácido (Anexo). As lagartas que morreram em decorrência do parasitismo, adquiriram coloração escura e tegumento flácido, sendo que as lagartas de sexto ínstar muitas vezes ficaram em estágio intermediário entre lagarta e pupa. O parasitismo, desenvolvimento e emergência de *T. howardi* em lagartas de *S. frugiperda* ocorreram nas fases de quinto, sexto instar e pré-pupa. Nas lagartas de sexto instar e pré-pupa, em que o parasitoide completou seu desenvolvimento, a emergência ocorreu na fase de pupa desse hospedeiro.

Na combinação de uma fêmea de *T. howardi* com uma lagarta de *S. frugiperda*, não houve a emergência dos adultos do parasitoide. A duração do ciclo ovo-adulto de *T. howardi* variou de $20,10 \pm 0,22$ para a fase de pré-pupa e de $31,00 \pm 0,42$ para o quinto instar.

A progênie de *T. howardi* por lagarta de *S. frugiperda* foi proporcional ao aumento do tamanho da lagarta, porém a maior progênie foi na fase de pré-pupa, isto, porque *T. howardi* é um parasitoide de pupa. A razão sexual foi semelhante entre os tratamentos, com valores de $0,87 \pm 0,03$; $0,92 \pm 0,03$; $0,91 \pm 0,01$ para quinto, sexto instar e pré-pupa respectivamente.

Na densidade 1, ocorreu o parasitismo, em todos os instares testados, mas não houve emergência dos adultos de *T. howardi*. Na densidade 7, ocorreu o parasitismo, em todos os instares testados e o desenvolvimento e emergência dos adultos de *T. howardi* ocorreu no quinto e sexto instar.

DISCUSSÃO

O parasitismo de *Tetrastichus howardi* ocorreu em lagartas de *S. frugiperda* de segundo ao sexto instar e pré-pupa, sendo que uma fêmea parasitoide foi suficiente para causar mortalidade do hospedeiro. A oviposição de fêmeas de *T. howardi* ocasionou uma modificação no corpo da lagarta. As mudanças na coloração e na consistência do corpo de lagartas de *S. frugiperda* parasitadas por *T. howardi* podem estar relacionadas com as alterações promovidas pelos fluídos que são injetados durante a oviposição. Essas substâncias causam distúrbios fisiológicos que auxiliam na supressão do sistema imunológico do hospedeiro (Danneels et al. 2010; Asgari & Rivers 2011; Colinet et al. 2013).

Na densidade 1, a emergência dos adultos de *T. howardi* não ocorreu em nenhum dos instares avaliados. Porém foram observadas pupas mortas e ocas de *S. frugiperda*, o que está relacionado diretamente com o sistema imune do hospedeiro, que ativou o metabolismo da profenoloxidase, que resultou em uma melanização generalizada (Kanost 1999; Silva et al. 2000; Ajamhassani et al. 2012). Isso pode ter causado a morte dos imaturos do parasitoide, como também foi letal para o próprio hospedeiro.

Na densidade 7, a emergência ocorreu apenas no 5º, 6º instar e pré-pupa. Sendo de 86.50 ± 36.45 ; 225.18 ± 16.23 e 363.27 ± 44.61 respectivamente. Esse fato confirma que nos outros instares, o qual não ocorreu a emergência dos adultos, o que ocasionou a morte das lagartas foi realmente o parasitismo. Isso está relacionado ao fato de uma fêmea de *T. howardi*, em alguns casos, não causar a morte imediata das lagartas de *S. frugiperda*, sendo evidenciado quando lagartas de diferentes instares morreram

após atingirem a fase de pupa. É importante ressaltar, que foi disponibilizada dieta artificial para as lagartas até atingirem a fase de pupa, apesar das mesmas consumirem alimento por um tempo limitado.

O parasitoide não completou o desenvolvimento nas lagartas de segundo, terceiro e quarto ínstar, na densidade 1, não havendo emergência de *T. howardi* nessas fases do hospedeiro. Porém o resultado obtido de parasitismo pode ser considerado ótimo, tendo em vista um manejo integrado da praga em campo. A não emergência do adulto parasitoide ser relacionado ao excesso de toxina injetada no hospedeiro no momento da oviposição, considerando principalmente a proporção de sete fêmeas parasitoides por lagarta de *S. frugiperda*. Esse fato também pode ser atribuído ao menor tamanho da lagarta, nos primeiros ínstars, pois não houve emergência de *T. howardi* mesmo quando se utilizou uma única fêmea por hospedeiro, demonstrando que o recurso disponível nessas lagartas não foi suficiente para os imaturos completarem o desenvolvimento.

A qualidade nutricional da larva como hospedeiro aumenta a medida que ela cresce e se desenvolve (Cônoli & Vinson 2009), isso pode ter favorecido a recuperação hemocitária das larvas de quinto ínstar de *S. frugiperda*, diminuindo conseqüentemente o parasitismo por *T. howardi*, principalmente porque as lagartas foram alimentadas após serem expostas ao parasitoide (Mahmoud et al. 2011).

Outro fato importante é que as larvas em fases mais adiantadas são mais agressivas, demonstrando que hospedeiros maiores podem se defender melhor do que os menores (Kouamé & Mackauer 1991). As lagartas de quinto ínstar apresentaram um comportamento defensivo que reduziu o parasitismo por *T. howardi*, por meio de movimentos do corpo e regurgito. Situação semelhante foi observada para larvas de terceiro, quarto e quinto ínstar de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) que apresentaram movimentos agressivos em direção a *Eriborus argenteopilosus* (Hymenoptera: Ichneumonidae), interrompendo a oviposição da fêmea parasitoide ou afastando-a para longe (Pascua & Pascua 2004).

Nas lagartas parasitadas de quinto e sexto ínstar, nas quais o parasitoide completou o desenvolvimento, a emergência de *T. howardi* ocorreu tanto da própria lagarta quanto das pupas de *S. frugiperdas*. A mudança de fase dessas lagartas pode ter sido influenciada pelo parasitismo ou pelo cessamento da alimentação. A parada alimentar promove redução no metabolismo, com isso as secreções das células do

cérebro passam a estimular a glândula protorácica em níveis suficientes para promover a muda (Costa & Ide 2006).

A duração do ciclo (ovo-adulto) de *T. howardi* emergidos de *S. frugiperda* expostos a sete fêmeas do parasitoide foi estatisticamente diferente. A duração do ciclo de vida foi maior no quinto instar ($31,00 \pm 0,45$) e menor no sexto instar ($22,44 \pm 0,97$) e pré-pupa ($20,10 \pm 0,22$). Isso pode ser devido ao fato de larvas de ínstaes avançados fornecerem mais nutrientes para os parasitoides do que larvas mais jovens, resultando em rápido crescimento e desenvolvimento (Pascua & Pascua 2004).

A progênie de *T. howardi* obtida em lagartas de *S. frugiperda* foi maior nas lagartas de sexto instar e pré-pupa, o que pode ser devido ao estágio mais avançado desse hospedeiro e a proximidade com a fase de pupa. Semelhante ao observado com a obtenção de progênie de *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae), que ocorreu somente nos ínstaes mais tardios de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) (Van Nieuwenhove & Ovruski 2011). No estágio larval ocorrem alterações na estrutura de vários tecidos e também no metabolismo do inseto, o que interfere na disponibilidade de nutrientes na hemolinfa das larvas (Cônsoi & Vinson 2009).

Em lagartas de quinto instar a progenie foi de $86,50 \pm 36,45$, resultando em menor número de indivíduos. Podendo estar relacionado ao fato de um maior número de parasitoides serem necessários para suprimir a imunidade do hospedeiro e dessa forma proporcionar melhores condições para os imaturos completarem seu desenvolvimento.

O parasitismo de *T. howardi* sobre lagartas de *S. frugiperda* não foi influenciado pelos ínstaes das lagartas desse hospedeiro, ou seja, em todos os ínstaes ocorreu o parasitismo. Tendo em vista que, em campo serão encontradas todas as fases da *S. frugiperda*, este será um fato de extrema importância para o controle da lagarta do cartucho do milho em campo.

O parasitoide *T. howardi* parasitou com eficiência as lagartas em laboratório, sendo que uma única fêmea foi capaz de causar a mortalidade de lagartas de segundo, terceiro, quarto e quinto e sexto ínstaes de *S. frugiperda*. No entanto, na densidade 7, quinto e no sexto instar, foram avaliadas as características dos adultos emergidos do hospedeiro, confirmando que o que ocasionou a mortalidade das lagartas foi realmente *T. howardi*.

Essas informações são relevantes e favorecem o desenvolvimento de pesquisas que visam à utilização deste parasitoide para o controle desse hospedeiro em plantios milho.

CONCLUSÃO

1. Fêmeas de *T. howardi* conseguem parasitar lagartas *S. frugiperda* de segundo, terceiro, quarto, quinto sexto instar e pré-pupa, nas densidades 1 e 7 fêmeas por hospedeiro em condições de laboratório, sendo este o primeiro registro na literatura.
2. *Tetrastichus howardi* consegue emergir apenas de lagartas de *S. frugiperda* de quinto, sexto instar e pré-pupa, na densidade 7 fêmeas por hospedeiro.

AGRADECIMENTOS

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT).

REFERÊNCIAS

AJAMHASSANI, M.; SENDI, J.J.; FARSI, M.J.; ZIBAE, A. 2012. Purification and characterization of phenoloxidase from the hemolymph of *Hyphantria cunea* (Lepidoptera: Arctiidae). *Invertebrate Survival Journal* **9**: 64-71.

ASGARI, S.; RIVERS, D.B. 2011. Venom proteins from endoparasitoid wasps and their role in host-parasite interactions. *Annual Review of Entomology* **56**: 313-335.

BAITHA, A.; JALALI, S.K.; RABINDRA, R.J.; VENKATESAN, T.; RAO, N.S.; 2004. Parasitizing efficiency of the pupal parasitoid, *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) on *Chilo partellus* (Swinhoe) at different exposure periods. *Journal of Biological Control* **18**: 65-68.

BARBOSA, L. S.; COURI, M. S.; COELHO, V. M. A. 2008. Influência do aumento do número de pupas hospedeiras de *Cochliomyia macellaria* (Diptera, Calliphoridae) no desenvolvimento do parasitoide *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera, Pteromalidae) em laboratório. *Iheringia Série Zoologia* **98**: 3.

BARRAT, B. I. P.; HOWARTH, F. G.; WITHERS, T. M.; KEAN, J. M.; RIDLEY, G. S. 2010. Progress in risk assessment for classical biological control. *Biological Control* **52**: 245-254.

CHERIAN, M.C.; SUBRAMANIAM, C.K. 1940. *Tetrastichus ayyari* Rohw – a pupal parasite of some moth-borers in South India. *Agricultural Research Institute* **2**: 75-77.

COLINET, D.; MATHÉ-HUBET, H.; ALLEMAND, R.; GATTI, J. L.; POIRIÉ M. 2013. Variability of venom components in immune suppressive parasitoid wasps: From a phylogenetic to a population approach. *Journal of Insect Physiology* **59**: 205- 212.

CÔNSOLI, F.L.; VINSON, S.B. 2009. Parasitoides (Hymenoptera). In: PANIZZI, A.R.; PARRA, J.R.P. (Eds.). *Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 837-873.

COSTA, C.; IDE, S. 2006. Crescimento e muda. In: COSTA C, IDE S, SIMONKA C E. (Eds.). *Insetos imaturos: metamorfose e identificação*. Ribeirão Preto: Holos. 31-36.

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

DANNEELS, E.L.; RIVERS, D.B.; GRAAF, D.C. 2010. Venom proteins of the parasitoid wasp *Nasonia vitripennis*: Recent discovery of an untapped pharmacopee. *Toxins* **2**: 494-516.

FAVERO, K.; PEREIRA, F.F.; KASSAB, S.O.; OLIVEIRA, H.N.; COSTA, D.P. AND ZANUNCIO, J.C. 2013. Biological Characteristics of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) are Influenced by the Number of Females Exposed Per Pupa of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Florida Entomologist* **96**: 583-589.

KANOST, M.R. 1999. Serine preteainase inhibitors in arthropod immunity. *Developmental and Comparative Immunology* **23**: 291-301.

KOUAMÉ, K.L.; MACKAUER, M. 1991. Influence of aphid size, age and behaviour on host choice by the parasitoid wasp *Ephedrus californicus*: a test of host-size models. *Oecologia* **88**: 197-203.

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

LENTEREN, J.C. van. 2012. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. *BioControl* **57**: 1-20.

MAHMOUD, M.; LUNA-SANTILLANA, D.; RODRÍGUES-PÉREZ, M.A. 2011. Parasitism by the endoparasitoid, *Cotesia flavipes* induces cellular immunosuppression and enhances susceptibility of the sugar cane borer, *Diatraea saccharalis* to *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Insect Science* **11**: 1-15.

NAKAJIMA, Y.; NAKAGAWA, R.; FUJISAKI, K. 2012. Interactions between the winter cherry bug *Acanthocoris sordidus* (Hemiptera: Coreidae) and its egg parasitic wasps. *Applied Entomology and Zoology* **47**: 35-44.

PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORREA-FERREIRA, B.; BENTO, J.M.S. 2002. Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores. *Editora Manole: São Paulo*, 609.

PARRA, J.R.P. 2007. Técnicas de Criação de Insetos para Programa de Controle Biológico. 6. ed. Piracicaba: ESALQ/FEALQ. 134

PASCUA, M.E.; PASCUA, L.T. 2004. Ichneumonid wasp, *Eriborus argenteopilosus* Cameron (hymenoptera: Ichneumonidae) on the different larval stages of cotton bollworm *Helicoverpa armigera* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Science* **132**: 103-108.

PASTORI, P.L.; MONTEIRO, L.B.; BOTTON, M. 2008. Biologia e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) linhagem bonagota criado em ovos de *Bonagota salubricola* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae). *Revista Brasileira de Entomologia* **52**: 472-476.

PASTORI, P.L.; MONTEIRO, L.B.; BOTTON, M.; PRATISSOLI, D. 2010. Efeito da idade do parasitoide e do hospedeiro na reprodução de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Bonagota salubricola* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae). *Arquivos do Instituto Biológico* **77**: 349-353.

PASTORI, P.L.; ZANUNCIO, J.C.; SILVA, R.O.; PEREIRA, F.F.; AZAMBUJA, R.; PEREIRA, J.M.M. 2012b. Reprodução de *Trichospilus diatraeae* Cheria & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Anticarsia gemmantalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) em relação á idade do parasitoide e do hospedeiro. *EntomoBrasilis* **5**: 37-42.

PEREIRA, F.F.; ZANUNCIO, J.C.; SERRÃO, J.E.; PASTORI, P.L.; RAMALHO F.S. 2009 a. Reproductive performance of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) with previously refrigerated pupae of *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). *Brazilian Journal of Biology* **69**: 865-869.

PEREIRA, F.F.; ZANUNCIO, J.C.; SERRÃO, J.E.; ZANUNCIO, T.V.; PRATISSOLI, D.; PASTORI, P.L. 2010b. 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 Acadadêmia Brasileira de Ciências* **81**: 323-331.

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 Agronômica**, v. 41, p.715-720, 2010a.

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

PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; CALADO, R. F.; VARGAS, E.L.; OLIVEIRA, H. N.; ZANUNCIO, J. C. 2015. Parasitism and emergence of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) larvae, pupae and adults. *Florida Entomologist* **98**: 377-380.

PRASAD, K.S.; ARUNA, A.S.; KUMAR, V.; KARIAPPA, B.K. 2007. Feasibility of mass production of *Tetrastichus howardi* (Olliff), a parasitoid of leaf roller (*Diaphania pulverulentalis*), on *Musca domestica* (L.). *Indian Journal of Sericulture* **46**: 89-91.

SILVA, C.; DUNPHY, G.B.; RAU, M.E. 2000. Interaction of hemocytes and prophenoloxidase system of fifth instar nymphs of *Acheta domesticus* with bacteria. *Developmental and Comparative Immunology* **24**: 367-379.

VAN, NIEUWENHOVE, A.; OVRUSKI, S.M. 2011. Influence of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) Larval Instars on the Production of *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymneoptera: Braconidae) Progeny and their Sex Ratio. *Florida Entomologist* **94**: 863-86.

VARGAS, E.L.; PEREIRA, F.F.; TAVARES, M.T.; PASTORI, L. 2011. Record of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Diatraea* sp. (Lepidoptera: Crambidae) in sugarcane crop in Brazil. *Entomotropica* **26**: 135-138.

Etapa 01

Tabela 1. Médias (\pm erro padrão) do parasitismo de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) por lagarta de segundo, terceiro, quarto, quinto e sexto ínstar de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) na densidade 1 fêmea, no período de parasitismo de 24 horas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas mantidas constantes ($F= 9,1282$; $P= 0,0234$).

Densidade	Instar	Parasitismo (%)
1	2	26.00 ± 5.21 a
1	3	6.00 ± 3.06 b
1	4	2.00 ± 2.00 b
1	5	12.00 ± 6.11 ab
1	6	6.00 ± 3.06 b

Dados foram transformados em Raiz $\sqrt{x + 0,5}$. Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

$P= 0,0034$.

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si.

C.V.=117,02;

Tabela 2. Médias (\pm erro padrão) do parasitismo de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) por lagarta de segundo, terceiro, quarto, quinto e sexto ínstar de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) na densidade 7 fêmeas, no período de parasitismo de 24 horas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas mantidas constantes ($F= 9,1282$; $P= 0,0234$).

Densidade	Instar	Parasitismo (%)
7	2	10.00 \pm 3.33 a
7	3	6.00 \pm 3.06 a
7	4	14.00 \pm 7.92 a
7	5	10.00 \pm 4.47 a
7	6	16.00 \pm 5.81 a

Dados foram transformados em Raiz $\sqrt{x + 0,5}$. Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

$P= 0,82$. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si.

C.V.= 127,03.

Etapa 02

Tabela 1. Médias (\pm erro padrão) das características biológicas dos indivíduos de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) emergidos de lagartas de quinto e sexto instar e pré-pupa de *Spodoptera frugiperda* com sete fêmeas de *T. howardi*, com 24 horas de parasitismo a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 14 horas.

	5° Ínstar	6° Ínstar	Pré- Pupa	P	C.V.
Parasitismo (%)	10.00 \pm 4.47 b n=10	28.00 \pm 6.23 b n=10	90.00 \pm 5.24 a n=10	0.0001	40.46
Emergência (%)	37.50 \pm 15.14 b n=4	76.39 \pm 10.91 ab n=9	92.50 \pm 5.24 a n= 10	0.00001	38.82
Duração do Ciclo de vida (dias)	31.00 \pm 0.45 a n=2	22.44 \pm 0.97 b n= 8	20.10 \pm 0.22 b n=10	0.0003	9.31
Progênie	86.50 \pm 36.45 b n=2	225.18 \pm 16.23 ab n= 8	363.27 \pm 44.61 a n= 10	0.47	41.55
Progênie/fêmeas	11.64 \pm 4.95 b	4.25 \pm 1.38 b	47.61 \pm 6.09 a	0.003	58.17

	n= 2	n= 8	n=10		
Razão sexual	0.87 ± 0.03 a	0.92 ± 0.03 a	0.91 ± 0.01 a	0.025	7.71
	n=2	n= 8	n=10		
Longevidade de Fêmeas (dias)	20.40 ± 0.20 a	20.95 ± 0.19 a	19.85 ± 0.62 a	0.0004	8.57
	n= 20	n=20	n=20		
Longevidade de Machos (dias)	19.90 ± 0.38 ab	20.00 ± 0.26 a	18.70 ± 0.40 b	0.065	5.66
	n= 10	n= 10	n= 10		

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

N= número de repetições.

Capítulo 2

Reprodução de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera:Noctuidae) de diferentes idades

* Artigo formatado de acordo com as normas do periódico African Entomology, com adaptações para as normas de dissertações e teses da UFGD.

Lucchetta, J. T.¹, Pereira, F. F.¹

¹Programa de Pós Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil.

RESUMO

Tetrastichus howardi (Olliff 1893)(Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide de larvas e pupas de insetos, principalmente da ordem Lepidoptera, sendo considerado um importante agente de controle biológico. O desenvolvimento de técnicas de criação é de fundamental importância para a implantação e o aprimoramento dos programas de controle biológico utilizando inimigos naturais. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da idade de pupas de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) sobre o parasitismo e o desenvolvimento de *T. howardi*. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e cinco repetições, sendo cada uma representada por um grupo de dez pupas de *S. frugiperda* individualizadas, totalizando 50 pupas por tratamento. Pupas de *S. frugiperda* com 24, 48, 72, 96 e 120 h de idade foram expostas ao parasitismo por uma fêmea de 24 horas de *T. howardi* em tubos de vidro (10 × 1,5 cm). As fêmeas de *T. howardi* foram retiradas após 24 h e as pupas mantidas a 25±2 °C, 70±10% de umidade relativa (UR) e fotofase de 14 h. As porcentagens de parasitismo, de emergência e duração do ciclo de vida (ovo- adulto) de *T. howardi* em pupas de *S. frugiperda* com idades de 0 a 120 horas foram semelhantes, com média geral de 76,40±3,12%, 46,60±6,90% e 15,65±0,23 dias, respectivamente. A progênie de *T. howardi* foi maior em pupas de 96 a 120 horas, enquanto a razão sexual foi semelhante com média geral de 0,87±0,06. A longevidade de fêmeas adultas *T. howardi* emergidas de pupas de *S. frugiperda* de diferentes idades também foi semelhante com média geral de 24,05±1,07 dias. Pupas de *S. frugiperda* com idades entre 24 e 120 h são adequadas para a multiplicação do parasitoide *T. howardi* em laboratório.

Palavras chave: Controle Biológico, Endoparasitoide, Parasitoide pupal.

INTRODUÇÃO

Tetrastichus howardi (Olliff 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide gregário, parasitoide de pupas de várias famílias de lepidópteros, incluindo: Crambidae, Noctuidae e Plutellidae (Kfir et al.1993; Moore & Kfir 1995; Kfir 1997; Baitha et al. 2004; Hayat & Shahi 2004; Prutz et al. 2004; Silva-Torres et al. 2010; Duong et al. 2011; Costa et al. 2014; Oliveira et al. 2016), e pode ser utilizado para controlar de forma eficaz vários lepidópteros pragas, como *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae), *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) e *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae).

A idade do hospedeiro (Thomazini & Berti Filho 2000, Matos Neto et al. 2004), assim como outras variáveis abióticas e bióticas (Harvey & Gols 1998; Ueno 1999, Harbison et al 2001; Uçkan & Gulel 2002) podem influenciar nas características biológicas do inimigo natural, como, por exemplo, o sucesso do parasitismo, atingindo diretamente a eficiência de sistemas de criação de inimigos para programas de controle biológico (Parra 2002).

A idade do parasitoide *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) influenciou no parasitismo no caso do hospedeiro *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae), onde foram testadas as idades de 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas, sendo constatado que a idade mais adequada da pupa para o desenvolvimento do parasitoide foi a de 24h, obtendo a maior progênie e o tamanho dos adultos emergidos foi maior em relação aos outros (Silva et al 2015).

Devido a grande facilidade de criação de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em laboratório, foi que pensamos em avaliar as características biológicas de *T. howardi*, sobre esse inseto, já sugerindo que tal parasitoide poderá ter sucesso com esse hospedeiro, como alternativo para criação de *T. howardi* (Oliveira et al 2012). O objetivo foi avaliar a influência da idade de pupas de *S. frugiperda* sobre o parasitismo e o desenvolvimento de *T. howardi*.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, da Universidade Federal da Grande Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

Criação do hospedeiro e do parasitoide para o experimento.

Criação de *S. frugiperda*. Ovos de *S. frugiperda* foram acondicionados em recipientes descartáveis contendo dieta artificial à base de feijão, germe de trigo, levedo de cerveja e anticontaminantes (Parra 2007), para alimentação das lagartas recém-eclodidas, onde permaneceram até completarem 10 dias. Essas lagartas foram transferidas para Placas de Petri descartáveis (6,5 cm de diâmetro e 2,5 cm de altura) contendo uma porção de dieta de realimentação, até a formação das pupas. As pupas foram recolhidas das Placas de Petri e selecionadas por meio da biomassa e das características morfológicas. Posteriormente, as pupas de *S. frugiperda* foram transferidas para gaiolas de PVC (10 cm de diâmetro e 22 de altura), até atingirem a fase adulta. Adultos (20 casais) foram mantidos nas gaiolas, as quais foram revestidas internamente com folhas de papel sulfite como substrato para oviposição. Estas gaiolas foram fechados com tecido do tipo ‘voil’ e elástico (Parra 2007). Para alimentação dos adultos foi utilizada uma solução de mel a 10%, embebidas em algodão. O papel sulfite e a solução de mel foram trocados diariamente, os ovos foram retirados e acondicionados em uma placa de Petri, após três dias ocorreu a eclosão dos ovos e as lagartas recém-eclodidas foram colocadas em

recipientes contendo a dieta artificial citada anteriormente, assim inicia-se o ciclo novamente, que dura aproximadamente 30-40 dias no total (Parra 2007).

Criação de *T. howardi*. Adultos de *T. howardi* foram mantidos em tubos de vidro (15 × 2 cm) tampados com algodão e contendo uma gotícula de mel, que serviu como alimento para os insetos. Pupas de *D. saccharalis*, com 24 a 48 h de idade, foram expostas ao parasitismo por três fêmeas de *T. howardi* durante 24 h a 25±2 °C, umidade relativa (UR) de 70±10% e fotofase de 14 h, em câmara climatizada (Vargas et al. 2011).

Desenvolvimento experimental. Pupas de *S. frugiperda* com 24, 48, 72, 96 ou 120 h de idade e biomassa em média 214,50±2,06 foram expostas ao parasitismo por uma fêmea de *T. howardi* com 24 h de idade. Cada tratamento foi acondicionado em tubos de vidro (10 × 1,5 cm) contendo uma gotícula de mel e fechados com algodão. As pupas de *S. frugiperda* foram expostas ao parasitoide por 24 h a 25±2 °C, 70±10% de umidade relativa (UR) e fotofase de 14 h. A duração do ciclo de vida (ovo-adulto), a porcentagem de parasitismo, descontando-se a mortalidade natural do hospedeiro (Abbott 1925), a porcentagem de emergência da progênie, o número de parasitoides emergidos por pupa de *S. frugiperda*, razão sexual (rs = nº de fêmeas/nº de adultos) e a longevidade foram avaliados. O sexo dos indivíduos foi determinado de acordo com características morfológicas da antena e do abdome de *T. howardi* (La Salle & Polaszek 2007). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e cinco repetições, sendo cada uma representada por um grupo de dez pupas de *S. frugiperda* individualizadas, totalizando 50 pupas por tratamento. Os dados das características biológicas, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a 5% de probabilidade, sendo os valores significativos, submetidos à análise de regressão.

RESULTADOS

As porcentagens de parasitismo, de emergência e duração do ciclo de vida (ovo-adulto) de *T. howardi* em pupas de *S. frugiperda* com idades de 24 a 120 horas foram semelhantes, com média geral de 76,40±3,12%, 46,60±6,90% e 15,65±0,23dias, respectivamente (Tabela 01).

A progênie de *T. howardi* foi maior em pupas de *S. frugiperda* com 96 a 120 horas, (Figura 1), enquanto a razão sexual foi semelhante com média geral de $0,87 \pm 0,06$ (Tabela 1).

A longevidade de fêmeas adultas de *T. howardi* emergidas de pupas de *S. frugiperda* de diferentes idades também foi semelhante com média geral de $24,05 \pm 1,07$ dias (Tabela 01).

DISCUSSÃO

Tetrastichus howardi parasitou e se desenvolveu em todas as idades de pupas testadas de *S. frugiperda* (24, 48, 72, 96 e 120 horas). Isso é importante por que permite que em criações em larga escala em laboratórios, o hospedeiro fique disponível o tempo todo de seu período pupal, para que seja utilizado em qualquer idade, não afetando negativamente a criação. Parasitoides desenvolveram estratégias para aproveitar os recursos nutricionais do hospedeiro, como, por exemplo, substâncias do ovário podem bloquear a defesa, provocar a morte, paralisar ou proteger os ovos contra o sistema imune (Kaeslin et al. 2005). Essas estratégias indicam a influência do parasitoide na supressão da defesa celular do hospedeiro, sendo importante para permitir que formas imaturas do parasitoide se desenvolvam mesmo em pupas de diferentes idades (Andrade et al. 2010).

Situação semelhante foi encontrada com o hospedeiro natural, *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Cambidae), onde a porcentagem de parasitismo, a emergência e a progênie de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis* não são influenciados pelas idades do hospedeiro avaliadas. O ciclo de vida e a longevidade de machos de *T. howardi* são menores em pupas de *D. saccharalis* com 24 h de idade e maiores em pupas de 120 h, respectivamente (Costa et al 2014). Já no presente trabalho, o ciclo de vida de *T. howardi* foi semelhante em todas as idades de pupas de *S. frugiperda* testadas. De maneira geral, pupas de *D. saccharalis* com 24 a 120 h de idade são adequadas para a multiplicação de *T. howardi*.

A semelhança ocorrida na emergência de adultos de *T. howardi* em todas as idades testadas deve-se ao fato de esses parasitoides possuírem uma grande capacidade de desenvolvimento, adaptação e estratégias para aproveitar os recursos nutricionais oferecidos pelo hospedeiro, pupas de *S. frugiperda* (Kaeslin et al. 2005).

A progênie de *T. howardi* foi influenciada pela idade de *S. frugiperda*. A medida que a idade da pupa aumentou, ocorreu um aumento na progênie de *T. howardi* e isso pode estar relacionado à resposta imune do hospedeiro (Bascuñán et al. 2010), a biomassa das pupas, pela capacidade de suporte do hospedeiro. A progênie pode variar conforme a espécie hospedeira, como ocorreu com *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) emergidos de pupas de *Thyrinteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) (Pastori et al. 2012a) e *Spodoptera cosmioides* Walker, 1858 (Lepidoptera: Noctuidae) (Zaché et al. 2012). Além disso, a produção de progênie pode depender do grau de competição entre irmãos em desenvolvimento dentro de um hospedeiro compartilhado (Riddick 2008), resultando em menor tamanho corporal (Fidgen et al. 2000). Em razão do intenso metabolismo na fase de pupa, a realocação de recursos para defesa na pupa poderia comprometer a sobrevivência, a reprodução e a competição do inseto adulto no ambiente (Gershman et al. 2010).

A razão sexual de *T. howardi* foi semelhante, sendo este fato importante para sistemas de criação massiva de insetos, experimentos de laboratório e seleção de indivíduos para liberação no campo. Parasitoides podem selecionar o sexo de cada indivíduo da progênie, de acordo com o tamanho ou a qualidade do recurso hospedeiro (Amalin et al. 2005; Soares et al. 2009; Pastori et al. 2012 b).

Proporções sexuais das espécies parasitoides podem ser controladas potencialmente, de preferência em favor das fêmeas, propiciando programas de controle biológico mais efetivos, com predominância de indivíduos do sexo feminino para liberações no campo, uma vez que são as fêmeas que parasitam e impedem a emergência do adulto hospedeiro (Cañete & Foerster 2003; Zacarin et al. 2004). Isto nos permite evidenciar que a razão sexual de *T. howardi* não é constante, pois depende de diversos fatores, especialmente da qualidade do hospedeiro. Portanto, a criação e a seleção da pupa hospedeira devem ser levadas em consideração ao se multiplicar *T. howardi*.

A longevidade de fêmeas de *T. howardi* não foi influenciada pela idade do hospedeiro *S. frugiperda*, sendo em média de $24,05 \pm 1,07$ dias. Isso permite um maior tempo de exposição ao parasitismo, para localizar e parasitar seu hospedeiro, essa característica difere de outras espécies de parasitoides já estudadas.

Observamos no presente trabalho que, a idade não influenciou negativamente no desenvolvimento de *T. howardi*, independentemente da idade da pupa de *S. frugiperda*.

Apenas foi observado que, na idade de 120 horas ocorreu uma progênie maior, que foi de $97,56 \pm 5,83$ indivíduos. Diferentemente, do que ocorreu no parasitismo por *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis*, onde foi constatado que a idade da pupa influenciou diretamente nas características avaliadas, sendo a combinação de sete fêmeas de *T. howardi* com 24 horas de parasitismo em pupas de *D. saccharalis* a mais apropriada para multiplicação desse parasitoide por proporcionar a maior progênie, o maior número total de descendentes fêmeas produzidas por fêmea parasitoide e elevada razão sexual (Costa et al. 2014).

O fato de *T. howardi* conseguir parasitar e se desenvolver nessa faixa de idade da pupa é importante pela disponibilidade prolongada de hospedeiro, permitindo maior tempo de sua utilização em laboratório e experimentos de campo, além de propiciar a redução dos custos de produção decorrentes das perdas de hospedeiros, que normalmente são utilizados até 48 h de idade para criações de parasitoides.

De maneira geral, pupas de *S. frugiperda* de diferentes idades (24 a 120 h) não afetaram negativamente o parasitismo e o desenvolvimento de *T. howardi*. Embora, a idade da pupa não tenha influenciado estatisticamente sobre as características biológicas de *T. howardi*, é possível sugerir que pupas com 96 a 120 horas de *S. frugiperda* são adequadas, pois com base nos dados obtidos, a partir de 100 pupas, 80% são parasitadas, ocorre emergência de adultos de *T. howardi* em 59 % dessas pupas, com progênie total de 5.775,55, sendo 3638,59 fêmeas. Parasitar e se desenvolver em pupas de diferentes idades pode garantir uma criação do inimigo natural *T. howardi* em larga escala em laboratório.

CONCLUSÃO

Fêmeas adultas de *T. howardi* conseguem parasitar e se desenvolver em pupas de *S. frugiperda* de 24 a 120 horas em condições de laboratório.

AGRADECIMENTOS

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação

de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT).

REFERÊNCIAS

ABBOTT, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal Economy Entomology* **18**: 265-267.

ANDRADE, G.S.; SERRÃO, J.E.; ZANUNCIO, J.C.; ZANUNCIO, T.V.; LEITE, G.L. D.; POLANCZYK, R.A. 2010. Immunity of an alternative host can be overcome by higher densities of its parasitoids *Palmistichus elaeisis* and *Trichospilus diatraeae*. *Plos One* **5**: 1-7.

AMALIN, D.M.; PEÑA, J.E.; DUNCAN, R.E. 2005. Effects of host age, female parasitoid age, and host plant on parasitism of *Ceratogramma etiennei* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Florida Entomologist* **8**: 77-82.

BASCUÑÁN-GARCIA, A.P.; LARA, C.; CÓRDOBA-AGUILAR, 2010. A. Immune investment impairs growth, female reproduction and survival in the house cricket, *Acheta domesticus*. *Journal of Insect Fysiology* **56**: 204-211.

BAITHA, A.; JALALI, S.K.; RABINDRA, R.J.; VENKATESAN, T. 2004. Parasitizing efficiency of the pupal parasitoid, *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) on *Chilo partellus* (Swinhoe) at different exposure periods. *Journal of Biological Control* **18**: 65-68.

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

COSTA, D.P.; PEREIRA, F.F.; KASSAB, S.O.; ROSSONI, C.; FAVERO, K.; BARBOSA, R.H. 2014. Reprodução de *Tetrastichus howardi* em pupas de *Diatraea saccharalis* de diferentes idades. *Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences* **57**: 67-71.

DUONG, C.A.; DIEP, D.N.; HUNG, H.Q. 2011. Survey of sugarcane moth borers in southeast Vietnan. *International Sugar Journal* **113**: 732-737.

FIDGEN, J.G.; EVELEIGH, E.S. & QUIRING, D.T. 2000. Influence of host size on oviposition behaviour and fitness of *Elachertus cacoeciae* attacking a low-density population of spruce budworm *Choristoneura fumiferana* larvae. *Ecological Entomology* **25**: 156-64.

GERSHMAN, S.N.; BARNETT, C.A.; PETTINGER, A.M.; WEDDLE, C.B.; HUNT, J.; SAKALUK, S.K. 2010. Give'til it hurts: trade-offs between immunity and male reproductive effort in the decorated cricket, *Grillodes sigillatus*. *Journal of Evolutionary Biology* **23**: 829-839.

- HAYAT, M.; SHAHI, M.H. 2004. Taxonomic notes on indian Eulophidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) - 1. On the types of some Tetrastichinae. *Oriental Insects* **38**: 303-314.
- HARBISON, J.L.; LEGASPI, J.C.; FABRITIUS, S.L.; SALDAÑA, R.R.; LEGASPI, B. C.; ENKEGAARD, A. 2001. Effects of age and host number on reproductive biology of *Allorhogas pyralophagus* (Hymenoptera: Braconidae) attacking the Mexican rice borer (Lepidoptera: Pyralidae). *Environ Entomology* **30**: 129-135.
- HARVEY, J.A.; GOLS, G.J.Z. 1998. The influence of host quality on progeny and sex allocation in the pupal ectoparasitoid *Muscidifurax raptorellus* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Bull Entomology* **88**: 299-304.
- KAESLIN, M.R.; PFISTER-WILHELM, R.; MOLINA, D.; LANZEREIN, B. 2005. Changes in the haemolymph proteome of *Spodoptera littoralis* induced by the parasitoid *Chelonus inanitus* or its polydnavirus and physiological implications. *Journal of insect Physiology* **51**: 975-988.
- KFIR, R.; GOUWS, J.; MOORE, S.D. 1993. Biology of *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera:Eulophidae) a facultative hyperparasitoid of stem borers. *Biocontrol Science and Technology* **3**: 149-159.
- KFIR, R. 1997 Parasitoids of *Plutella xylostella* (Lep.; Plutellidae) in South Africa: An annotated list. *Entomophaga* **42**: 517-523.
- LA, SALLE, J.; POLASZEK, A. 2007. Afrotropical species of the *Tetrastichus howardi* species group (Hymenoptera: Eulophidae). *African Entomology* **15**: 45-56.
- MATOS, NETO, F.C.; ZANUNCIO, J.C.; CRUZ, I.; GUEDES, R.N.C.; PICANÇO, M.C. 2004. Progeny production and parasitism by *Campoletis flavicincta* (Hym.: Ichneumonidae) as affected by female ageing. *Biologia Agrícola* **22**: 369-378.
- MOORE, S.D.; KFIR, R. 1995. Host preference of the facultative hyperparasitoid *Tetrastichus howardi* (Hym: Eulophidae). *Entomophaga* **40**: 69-76.
- OLIVEIRA, F.G.; PEREIRA, F.F.; CALADO, V.R.F.; GRANCE, E.L.V.; RODRIGUES, B.A.C.; SILVA, N.V. 2012. Parasitismo de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). In: XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia.
- OLIVEIRA, H.N.; SIMONATO, J.; GLAESER, D.F.; PEREIRA, F.F.; 2016. Parasitismo f *Helicoverpa armigera* pupae (Lepidoptera: Noctuidae) by *Tetrastichus howardi* and *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae). *Semina: Ciências Agrárias* **37**: 111-115.
- PASTORI, P.L.; PEREIRA, F.F.; ANDRADE, G.S.; SILVA, R.O.; ZANUNCIO, J.C. & PEREIRA, A.I.A. 2012 a. Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) in pupae of two lepidopterans defoliators of eucalypt. *Revista Colombiana de Entomologia* **38**: 91-93.

PASTORI, P.L.; MONTEIRO, L.B.; BOTTON, M.; PRATISSOLI, D. 2012 b. Efeito da idade do parasitoide e do hospedeiro na reprodução de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Bonagota salubricola* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae). *Arquivos do Instituto Biológico* **77**: 349-353.

PARRA, J. R. P. 2002. Controle biológico: criação massal de inimigos naturais. In Parra J R P, Botelho P S M, Corrêa- Ferreira B S, Bento J M S (eds) *Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores* **635**: 143-161.

PARRA, J. R. P. 2007. *Técnicas de Criação de Insetos para Programa de Controle Biológico*. 6. ed. Piracicaba: ESALQ/FEALQ 134.

PEREIRA, F.F.; KASSAB, S.P.; CALADO, V.R.F.; VARGAS, E.L.; OLIVEIRA, H.N.; ZANUNCIO, J. C.; 2015. Parasitism and emergence of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) larvae, pupae and adults. *Florida Entomologist* **98**: 377-379.

PRUTZ, G.; BRINK, A.; DETTNER, K. 2004. Transgenic insect-resistant corn affects the fourth trophic level: effects of *Bacillus thuringiensis* corn on the facultative hyperparasitoid *Tetrastichus howardi*. *Naturwissenschaften* **91**: 451-454.

RIDDICK, E.W. 2008. Sting frequency and progeny production of lab-cultured *Cotesia marginiventris*. *Biological Control* **53**: 295-302.

SILVA-TORRES, C.S.A.; PONTES, I.V.A.F.; TORRES, J.B. 2010. New records of natural enemies of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) in Pernambuco, *Neotropical Entomology* **39**: 835-838.

SOARES, M.A.; GUTIERREZ, C.T.; ZANUNCIO, J.C.; PEDROSA, A.R.P.; LORENZON, A.S. 2009. Superparasitismo de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) y comportamiento de defensa de dos hospederos. *Revista Colombiana de Entomologia* **35**: 62-65.

THOMAZINI, M. J.; BERTI-FILHO, E. 2000. Influência da densidade e idade de pupas de mosca doméstica no parasitismo por *Muscidifurax uniraptor* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Revista Agrícola* **75**: 339-348.

UENO, T. 1999. Host-size-dependent sex ratio in a parasitoid wasp. *Researches on Population Ecology* **41**: 47-57.

UÇKAN, F.; GULEL, A. 2002. Age-related fecundity and sex ratio variation in *Apanteles galleriae* (Braconidae) and host effect on fecundity and sex ratio of its hyperparasitoid *Dibrachys boarmiae* (Hym., Pteromalidae). *Journal of Applied Entomology* **126**: 534-537.

VARGAS, E.L.; PEREIRA, F.F.; TAVARES, M.T.; PASTORI, P.L. 2011. Record of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Diatraea* sp. (Lepidoptera: Crambidae) in sugarcane crop in Brazil. *Entomotropica* **26**: 135-138.

ZACARIN, G.G.; GOBBI, N. & CHAUD, NETTO, J. 2004. 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* **94**: 139-147.

ZACHÉ, B.; WILCKEN, C. F.; ZACHÉ, R. R. C. & SOUZA, N. M. 2012. Novo registro de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), como parasitoide de *Spodoptera cosmioides* Walker, 1858 (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. *Biota Neotropica* **12**: 319-322.

Tabela 01. Médias (\pm erro padrão) das características biológicas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) com 24, 48, 72, 96 e 120 h de idade, a $25\pm 2^\circ\text{C}$, $70\pm 10\%$ de (UR) e fotofase de 14 h.

Características Biológicas	Idade do Hospedeiro (h)					
	0-24	24-48	48-72	72-96	96-120	
Parasitismo (%)	70.00 \pm 0.04	68.00 \pm 5.33	80.00 \pm 6.67	84.00 \pm 5.81	80.00 \pm 5.16	n.s
Emergência (%)	38.00 \pm 0.06	37.83 \pm 8.90	41.17 \pm 6.75	42.00 \pm 6.92	74.00 \pm 6.45	n.s

Duração do ciclo de vida (dias)	15.40 ± 0.14	15.27 ± 0.04	15.72 ± 0.14	16.50 ± 0.53	15.34 ± 0.27	n.s
Razão sexual***	0.95 ± 0.01	0.97 ± 0.01	0.91 ± 0.05	0.89 ± 0.05	0.63 ± 0.09	n.s
Longevidade** (dias)	25.00 ± 0.50	23.40 ± 1.37	20.25 ± 2.85	26.30 ± 0.96	25.33 ± 3.20	n.s

n.s= Não significativo ($p > 0,05$), para ANOVA. *n° de indivíduos, **n° de dias e ***(n° de fêmeas/(n° de machos + n° de fêmeas)).

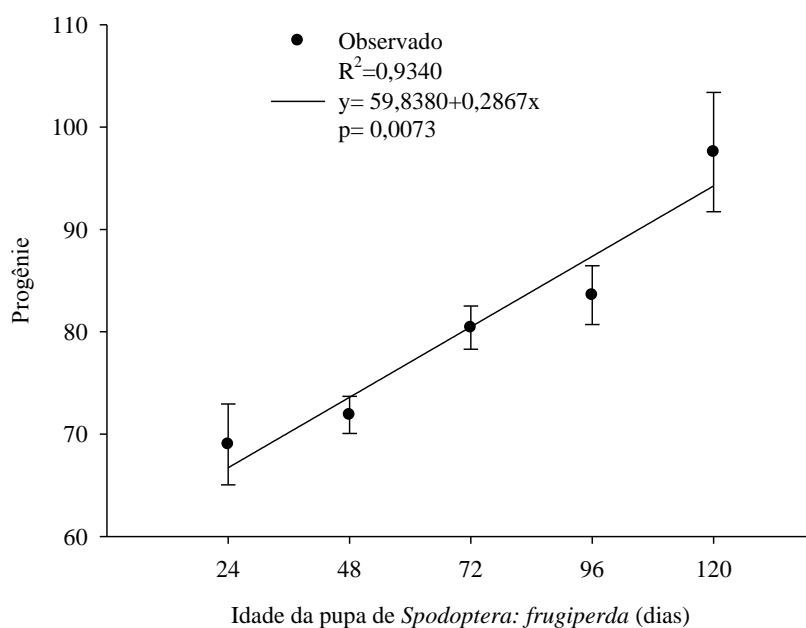


Figura 1. Progênie de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) criado em pupas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) com 24, 48, 72, 96 e 120 h de idade, a $25\pm 2^\circ\text{C}$, $70\pm 10\%$ de (UR) e fotofase de 14 h.

Capítulo 3

***Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em diferentes densidades parasitando pupas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)**

* Artigo formatado de acordo com as normas do periódico African Entomology, com adaptações para as normas de dissertações e teses da UFGD.

Lucchetta, J. T.¹, Pereira, F. F.¹

¹Programa de Pós Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil.

RESUMO

A densidade de fêmeas parasitoides interfere na capacidade de parasitar diferentes hospedeiros. O número adequado de fêmeas de *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) por pupa de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuide) foi determinado para multiplicação desse parasitoide em

laboratório. Pupas de *S. frugiperda* foram submetidas ao parasitismo por fêmeas de *T. howardi* nas densidades 1:1, 7:1, 14:1, 21:1, 28:1 ou 35:1 (parasitoide: hospedeiro). As fêmeas parasitoides e as pupas foram acondicionadas em tubos de vidro (8,5 × 2,5 cm) e mantidas em contato por 24 h, em câmara climatizada a 25±2°C, 70±10% de umidade relativa e fotofase de 14h. A porcentagem de parasitismo e emergência de *T. howardi* sobre pupas de *S. frugiperda* foi de 99% em média dentre as densidades do parasitoide avaliadas. A duração do ciclo biológico (ovo-adulto) de *T. howardi* foi de 16,52±0,24 dias na densidade de 1:1 e 16,00±0,00 dias na de 35:1. A progênie por pupa variou de 99,1±6,09 a 485,04 ± 48,53 descendentes por pupa nas densidades 1:1 e 35:1, respectivamente. A razão sexual não diferiu significativamente. Fêmeas adultas de *T. howardi* conseguem parasitar e se desenvolver em pupas de *S. frugiperda* em todas as densidades avaliadas: 1:1, 7:1, 14:1, 21:1, 28:1 e 35:1 (parasitoide: hospedeiro) em condições de laboratório. A densidade de 21 fêmeas de *T. howardi* por pupa de *S. frugiperda* proporciona a maior quantidade de fêmeas descendentes desse parasitoide em condições de laboratório, por isso foi considerada a mais adequada, já que é a fêmea que parasita o hospedeiro.

Palavras-chave: Controle biológico, criação massal, densidade de parasitoide.

INTRODUÇÃO

Tetrastichinae é a maior subfamília de Eulophidae, que incluem parasitoides de hospedeiros pertencentes a mais de 100 famílias de insetos de diferentes ordens. Dentre as espécies deste grupo, *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide de hábito gregário, sendo um parasitoide primário ou hiperparasitoide facultativo, que se encontra associado com um grande número de espécies de lepidópteros pragas de importantes culturas agrícolas (Karindah et al. 2005; Sullivan & Völkl 1999; Baitha et al 2004; Prasad et al 2007; La Salle & Polaszek 2007; Cruz et al 2011; Vargas et al 2011).

Esse inimigo natural é considerado também um parasitoide de lagartas e pupas de *Diatraea saccharalis* (Vargas et al 2011). Estudos recentes demonstram que *T. howardi* parasita com sucesso pupas de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) em condições de laboratório, demonstrando que esse pode ser um bom hospedeiro para criação desse inimigo natural (Oliveira et al 2016).

Para ser considerado um bom hospedeiro de criação algumas características devem ser consideradas ótimas, como por exemplo a densidade de *T. howardi* sobre pupa de *D. saccharalis*, que pode influenciar no desenvolvimento e na qualidade da mesmas, afetando diretamente o parasitoide que se nutriu dela (Vargas et al 2013).

O desenvolvimento e sobrevivência dos parasitoides imaturos são influenciados pelo tamanho, idade, estado nutricional, condições sanitárias, fase do hospedeiro parasitado e espécies hospedeiras (Sequeira & Mackauer 1992; Harvey et al 1994; Harvey 2000; Simões et al 2012). Isso porque o consumo e utilização de alimento constituem condição básica para o crescimento, desenvolvimento e a reprodução do parasitoide gregário, uma vez que a quantidade e qualidade do alimento utilizado na fase larval afeta o desempenho reprodutivo dos adultos (Godfray 1994; Hohmann & Luck 2004; Daha 2011).

Tetrastichus howardi pode se adaptar às variações de densidades de fêmeas e períodos de parasitismo, fato que permite maior plasticidade na utilização, desse inimigo natural, em sistemas de multiplicação massal (Costa 2014; Silva et al 2014; Pereira et al 2010; Costa 2013). Resultados semelhantes foram observados com a exposição de uma ou várias fêmeas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) por pupa de *D. saccharalis*, *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae), *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) ou seja, as diferentes densidades desse parasitoide, não influenciaram a porcentagem de parasitismo e emergência (Paron & Berti-Filho 2000).

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, da Universidade Federal da Grande Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

Multiplicação do hospedeiro e do parasitoide para o experimento. *Spodoptera frugiperda*. Ovos de *S. frugiperda* foram acondicionados em recipientes descartáveis contendo dieta artificial à base de feijão e germe de trigo, levedo de cerveja e anticontaminantes, para alimentação das lagartas recém-eclodidas, onde permaneceram até completarem 10 dias (Parra 2007). Essas lagartas foram transferidas para Placas de Petri descartáveis (6,5 cm de diâmetro e 2,5 cm de altura) contendo uma porção de dieta de realimentação, até a formação das pupas. As pupas foram recolhidas das Placas de Petri e selecionadas por meio da biomassa e das características morfológicas. Posteriormente, as pupas de *S. frugiperda* foram transferidas para gaiolas de PVC (10 cm de diâmetro e 22 de altura), até atingirem a forma adulta. Adultos (20 casais) foram

mantidos nas gaiolas, as quais foram revestidas internamente com folhas de papel sulfite como substrato para oviposição. Estes tubos foram fechados com tecido do tipo 'voil' e elástico (Parra 2007). Para alimentação dos adultos foi utilizada uma solução de mel a 10%, embebidas em algodão. O papel sulfite e a solução de mel foram trocados diariamente, os ovos foram retirados e acondicionados em uma placa de Petri, após três dias ocorreu a eclosão das lagartas, que foram colocadas nos recipientes contendo a dieta artificial citada anteriormente, assim inicia-se o ciclo novamente, que dura aproximadamente 30-40 dias no total (Parra 2007).

Multiplicação de *T. howardi*. Adultos de *T. howardi* foram mantidos em tubos de vidro (15 × 2 cm) tampados com algodão e contendo uma gotícula de mel, que serviu como alimento para os insetos. Pupas de *D. saccharalis*, com 24 a 48 h de idade, foram expostas ao parasitismo por três fêmeas de *T. howardi* durante 24 h a 25±2 °C, umidade relativa (UR) de 70±10% e fotofase de 14 h, em câmara climatizada (Vargas et al. 2011).

Desenvolvimento experimental. Pupas de *S. frugiperda* com 48 h foram expostas ao parasitismo por fêmeas de *T. howardi* com 24 h de idade nas densidades 1:1, 7:1, 14:1, 21:1, 28:1 e 35:1 (parasitoide: hospedeiro). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 12 repetições para cada tratamento. Foram selecionadas pupas com médias de biomassa de 0,140 ± 0,003 g. Após 24 h em contato com as pupas, as fêmeas de *T. howardi* foram retiradas dos tubos de vidro e os hospedeiros individualizados e mantidos em câmara climatizada a 25 ± 2°C, 70 ± 10% de umidade relativa e fotofase de 14 h até a emergência dos parasitoides adultos. A mortalidade natural do hospedeiro foi calculada utilizando a fórmula de Abbott (1925).

As características biológicas avaliadas foram a porcentagem de pupas parasitadas [(número de pupas de *S. frugiperda* com emergência de parasitoides + pupas sem emergência de adultos de *S. frugiperda*)/(número total de pupas) × 100]; porcentagem de pupas com emergência de parasitoides [(número de pupas de *S. frugiperda* com emergência de adultos dos parasitoides)/(número de pupas parasitadas) × 100]; a progênie (número de parasitoides emergidos por pupa de *S. frugiperda*); a duração (dias) do ciclo de vida (ovo–adulto); a longevidade média em dias (para avaliação dessa variável, foram selecionados ao acaso 20 fêmeas e 10 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

progênie de fêmeas e a razão sexual (RS = número de fêmeas/ número de adultos) de *T. howardi*. O sexo dos adultos de *T. howardi* foi determinado baseado nas características morfológicas da antena e abdome (Cherian & Margabandhu 1942).

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos e cinco repetições, sendo cada uma representada por um grupo de dez pupas de *S. frugiperda* individualizadas, totalizando 50 pupas por tratamento. Os dados das características biológicas, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a 5% de probabilidade, sendo os valores significativos, submetidos à análise de regressão.

RESULTADOS

A média da porcentagem de parasitismo e de emergência de *T. howardi* sobre pupas de *S. frugiperda* foi de 99% nas densidades de fêmeas parasitoides avaliadas (Tabela 1).

A duração do ciclo de vida (ovo–adulto) de *T. howardi* em pupas de *S. frugiperda* foi semelhante, com média geral de $16,30 \pm 0,10$ dias (Tabela 1).

A progênie produzida por pupa de *S. frugiperda* foi afetada pela densidade de *T. howardi*, com médias variando de $99,1 \pm 6,09$ a $513,82 \pm 18,66$ descendentes por pupa nas densidades 1:1 e 28:1, respectivamente (Figura 1).

A progênie produzida por fêmea de *T. howardi* nas pupas de *S. frugiperda* diminuiu o número de indivíduos à medida que aumentou a densidade desse parasitoide, decrescendo de $99,10 \pm 6,09$ a $11,14 \pm 0,98$ (Figura 2).

A razão sexual de *T. howardi* teve média geral de $0,85 \pm 0,02$ não diferindo com o aumento do número de fêmeas. Para a longevidade do parasitoide, não se verificou diferença estatística entre as densidades testadas, com médias de $22,10 \pm 0,64$ a $23,60 \pm 0,80$.

DISCUSSÃO

As porcentagens de parasitismo e de emergência de *T. howardi* sobre pupas de *S. frugiperda* não foram influenciadas pela densidade de fêmeas do parasitoide. Isto demonstra a adequabilidade ao hospedeiro para o desenvolvimento dos parasitoides, que precisam satisfazer seus requerimentos nutricionais e evitar que o sistema imunológico

do hospedeiro os elimine (Strand & Pech 1995; Cònsoli & Vinson 2009). É possível que maiores densidades de *T. howardi* possam reduzir os hemócitos circulantes na hemolinfa do hospedeiro e permitir o desenvolvimento inicial dos seus imaturos, como ocorreu em *T. diatraeae* em pupas de *A. gemmatalis* (Andrade et al. 2010)

O aumento da densidade de *T. howardi* em pupas de *S. frugiperda* não interferiu no ciclo ovo–adulto do parasitoide, indicando que a disponibilidade de recurso alimentar não afeta seu ciclo de vida. Isto corrobora, também, com o relatado para diferentes densidades de *P. elaiasis* em pupas de *Bombyx mori* (Pereira et al 2010) e *Melittobia digitata* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Neobellieria bullata* (Diptera: Sarcophagidae) (Silva-Torres & Matthews 2003). Quando ocorre a redução do tempo de desenvolvimento de parasitoides em seus hospedeiros pode ser atribuído à competição dos imaturos por nutrientes, acelerando a passagem de um instar para o outro (Godfray 1994).

A progênie produzida por fêmea de *T. howardi* foi afetada pela densidade de *T. howardi*, com médias variando de $99,10 \pm 6,09$ a $11,14 \pm 0,98$ descendentes por pupa nas densidades 1:1 e 35:1, respectivamente (Figura 2). A progênie produzida por cada fêmea de *T. howardi* em pupa de *S. frugiperda* declinou com o aumento da densidade. Esse declínio pode ser devido ao decréscimo da atividade fisiológica do parasitoide, do número de ovos depositados e da capacidade de parasitismo de fêmeas (Uçkan & Gulel 2002).

A progênie de *T. howardi* produzida por pupa de *S. frugiperda* foi afetada pela densidade de fêmeas parasitoides, o que pode estar relacionado com a capacidade de suporte do hospedeiro. A progênie pode variar conforme a espécie hospedeira, como ocorreu com *T. diatraeae* emergidos de pupas de *Thyrintina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae), *Hylesia paulex* (Lepidoptera: Saturniidae) (Pastori et al. 2012 a) e *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae) (Zaché et al. 2012). Além disso, a produção de progênie pode depender do grau de competição entre irmãos em desenvolvimento dentro de um hospedeiro compartilhado (Riddick 2008), resultando em menor tamanho corporal (Fidgen et al. 2000).

O número de fêmeas de *T. howardi* produzidas em cada pupa de *S. frugiperda*, em geral, aumentou conforme o aumento da densidade do parasitoide até a densidade 28. Isso pode ser devido à insuficiência de reservas nutritivas necessárias para o desenvolvimento de fêmeas parasitoides (Sagarra & Vincent 1999), pois o aumento

substancial na descendência masculina pode resultar em intensa competição intraespecífica de larvas (Irvin & Hoddle, 2006).

A proporção sexual também pode ser alterada pelo superparasitismo (Riddick 2007), o que pode ser resultado do confinamento de fêmeas parasitoides a um único hospedeiro (Patel et al. 2003) por tempo além daquele necessário para o parasitismo natural.

A razão sexual de parasitoides não foi influenciada. Quando apenas uma fêmea parasitoide coloniza um hospedeiro, existe a tendência de que a mesma produza o número de machos suficientes para fertilizar as fêmeas que depositou naquele hospedeiro (Carneiro et al. 2009). Em *T. howardi*, a proporção de machos é menor em relação a fêmeas, porém esse fato não interfere no potencial de fecundação (Bounier 1975). Dessa forma, as proporções sexuais das espécies parasitoides podem ser controladas potencialmente, de preferência em favor das fêmeas, propiciando programas de controle biológico mais efetivos, com predominância de indivíduos do sexo feminino para liberações no campo (Cañete & Foerster 2003; Zacarin et al. 2004), uma vez que são as fêmeas que parasitam e impedem a emergência do adulto hospedeiro.

A longevidade das fêmeas de *T. howardi* foi semelhante nas diferentes densidades. Em criações massais de parasitoides, a capacidade de sobrevivência é um dos requisitos para o controle de qualidade (Carneiro et al. 2009). Além disso, a maior longevidade representa uma característica favorável à espécie, pois confere às fêmeas parasitoides maior tempo de busca por hospedeiros no campo em condições de escassez dos mesmos (Foerster et al. 1999).

O número de fêmeas de parasitoides por hospedeiro trata-se de um fator importante a ser verificado no controle de qualidade das criações em laboratório e nas liberações massais, pois interfere em aspectos biológicos do parasitoide, como índice de parasitismo, viabilidade, progênie e razão sexual (Carneiro et al. 2009). *T. howardi* se desenvolveu nas pupas de *S. frugiperda* em todas as densidades avaliadas, mas a escolha do número de fêmeas por pupa para multiplicação do parasitoide será estabelecida de acordo com o objetivo da criação.

Para realização de estudos experimentais com *T. howardi*, uma fêmea por pupa é suficiente, porém para a produção em larga escala, as densidades de 21 e 28 fêmeas por pupa são mais adequadas. Nessas densidades, *T. howardi* apresentou excelentes características biológicas. Os resultados obtidos quanto ao período de desenvolvimento, razão sexual, progênie produzida e longevidade de *T. howardi* demonstram que esse

parasitoide apresenta potencial para ser utilizado futuramente no Controle Biológico de *S. frugiperda*, mas outros trabalhos relacionados a fatores que influenciam o parasitismo de lagartas desse hospedeiro por fêmeas de *T. howardi* ainda precisam ser realizados.

CONCLUSÃO

Fêmeas adultas de *T. howardi* conseguem parasitar e se desenvolver em pupas de *S. frugiperda* em todas as densidades avaliadas: 1:1, 7:1, 14:1, 21:1, 28:1 e 35:1 (parasitoide: hospedeiro) em condições de laboratório.

A densidade de 21 fêmeas de *T. howardi* por pupa de *S. frugiperda* proporciona a maior quantidade de fêmeas descendentes desse parasitoide em condições de laboratório.

AGRADECIMENTOS

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT).

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, G.S.; SERRÃO, J.E.; ZANUNCIO, J.C.; ZANUNCIO, T.V.; LEITE, G.L. D.; POLANCZYK, R.A. 2010. Immunity of an alternative host can be overcome by higher densities of its parasitoids *Palmistichus elaeisis* and *Trichospilus diatraeae*. *Plos One* **5**: 1-7.
- BAITHA, A.; JALALI, S.K.; RABINDRA, R.J.; VENKATESAN, T. 2004. Parasitizing efficiency of the pupal parasitoid, *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) on *Chilo partellus* (Swinhoe) at different exposure periods. *Journal of Biological Control* **18**: 65-68.
- BOURNIER, J. P. 1975. Sur la reproduction parthénogénétique de *Trichospilus diatraeae* Cher.et Margab. (Hymenoptera: Chalcidoidea). *Bulletin de la Société Entomologique de France* **80**: 116–118.
- CAÑETE, C. L. & FOERSTER, L. A. 2003. Incidência natural e biologia de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista Brasileira de Entomologia* **47**: 201-204.

- CARNEIRO, T. R.; FERNANDES, A. O. & CRUZ, I. 2009. Influência da competição intra-específica entre fêmeas e da ausência de hospedeiro no parasitismo de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) sobre ovos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista Brasileira de Entomologia* **53**: 482–486.
- CÔNSOLI, F. L. & VINSON, S. B. 2009. Parasitoides. In: A.R. Panizzi & J.R.P. Parra (eds), *Bioecologia e Nutrição dos Insetos*. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, p. 837–873.
- COSTA, D. P.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; ROSSONI, C.; PASTORI, P. L.; ZANUNCIO, J. C. *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) in Different Densities and Periods of Parasitismo on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) Caterpillars. *Entomological Society of America* **5**: 961-966-2014.
- COSTA, D. P.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; ROSSONI, C.; FAVERO, K.; BARBOSA, R. H. 2014. Reprodução de *Tetrastichus howardi* em pupas de *Diatraea saccharalis* de diferentes idades. *Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences* **57**: 67-71.
- COSTA, D. P. 2013. Interações biológicas entre *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) e *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) no parasitismo de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar, tese (doutorado em agronomia) – Universidade Federal da Grande Dourados.
- CRUZ, I.; REDOAN, A.C.; SILVA, R.B.; FIGUEIREDO, M.L.C.; PENTEADO-DIAS, A.M. 2011. New record of *Tetrastichus howardi* (Olliff) as a parasitoid of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) on maize. *Scientia Agricola* **68**: 252-254.
- DAHA, L. 2011. Parasitoid Quality of *Gronotoma micromorpha* Parasitizing *Liriomyza huidobrensis* on Chinese Cabbage and Soybean. *Journal of Biosciences* **18**: 113-117.
- FIDGEN, J.G.; EVELEIGH, E.S.; & QUIRING, D.T. 2000. Influence of host size on oviposition behaviour and fitness of *Elachertus cacoeciae* attacking a low-density population of spruce budworm *Choristoneura fumiferana* larvae. *Ecological Entomology* **25**: 156–164.
- FOERSTER, L.A.; DOETZER, A.K. & AVANCI, M.R.F. 1999. Capacidade reprodutiva e longevidade de *Glyptapanteles muesebecki* (Blanchard) (Hymenoptera: Braconidae) parasitando lagartas de *Pseudaletia sequax* Franclemont (Lepidoptera: Noctuidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* **28**: 485–490.
- GODFRAY, H. C. J. 1994. *Parasitoids, Behavioral and Evolutionary Ecology*. Princeton University Press, Princeton.
- HARVEY, J.A.; HARVEY, I.F.; THOMPSON, D.J. 1994. Flexible larval growth allows use of a range of host sizes by parasitoid wasp. *Ecology* **75**: 1420-1428.

HARVEY, J.A. 2000. Dynamic effects of parasitism by and endoparasitoid wasp on the two host species: implications for host quality and parasitoid fitness. *Ecological Entomology* **25**: 267-278.

INVIN, N.A. & HODDLE, M.S. 2006. The effect of intraspecific competition on progeny sex ratio in *Gonatocerus* spp. For *Homalodisca coagulata* egg masses: economic implications for mass rearing and biological control. *Biological Control* **39**: 162–170.

KARINDAH, S.; SULTANTO, E.S.; SULISTYOWATI, L. 2005. Parasitoid larva-pupa *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) pada *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae) di pertanaman kubis kota batu dan kabupaten malang. *Journal Entomologi Indonesia* **2**: 61- 68.

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

OLIVERIRA, H.N. de.; SIMONATO, J.; GLAESER, D.F.; PEREIRA, F.F.; 2016. Parasitismo de pupas de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) por *Tetrastichus howardi* e *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae). *Semina: Ciências Agrárias* **37**: 111-115.

PATEL, K.J.; CHUSTER, D.J.S. & MERAGE, G.H.S. 2003. Density dependent parasitism and host-killing of *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) by *Diclyphus intermedius* (Hymenoptera: Eulophidae). *Florida Entomologist* **86**: 8–14.

PASTORI, P.L.; PEREIRA, F.F.; ANDRADE, G.S.; SILVA, R.O.; ZANUNCIO, J.C. & PEREIRA, A.I.A. 2012a. Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) in pupae of two lepidopterans defoliators of eucalypt. *Revista Colombiana de Entomologia* **38**: 91–93.

PARON, M.J.F.O.; CIOCIOLA, A.I. & CRUZ, I. 1998. 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* **27**: 427–433.

PARON, M. R. & BERTI-FILHO E. 2000. Capacidade reprodutiva de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de diferentes hospedeiros (Lepidoptera). *Scientia Agrícola* **57**: 355–358.

PARRA, J. R. P. 2007. *Técnicas de Criação de Insetos para Programa de Controle Biológico*. 6. ed. Piracicaba: ESALQ/FEALQ. 134.

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

PRASAD, K.S.; ARUNA, A.S.; KUMAR, V.; KARIAPPA, B.K. 2007. Feasibility of mass production of *Tetrastichus howardi* (Olliff), a parasitoid of leaf roller

(*Diaphania pulverulentalis*), on *Musca domestica* (L.). *Indian Journal of Sericulture* **46**: 89-91.

RIDDICK, E. W. 2007. Influence of honey and maternal age on egg load of lab-cultured *Cotesia marginiventris*. *Biological Control* **52**: 613–618.

RIDDICK, E. W. 2008. Sting frequency and progeny production of lab-cultured *Cotesia marginiventris*. *Biological Control* **53**: 295–302.

SAGARRA, L.A. & VINCENT, C. 1999. Influence of host stage on oviposition, developments, sex ratio, and survival of *Anagyrus kamali* Moursi (Hymenoptera: Encyrtidae), a parasitoid of the Hibiscus Mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* Green (Homoptera: Pseudococcidae). *Biological Control* **15**: 51–56.

SAGARRA, L.A.; VINCENT, C. & STEWART, R.K. 2000. Mutual interference among female *Anagyrus kamali* Moursi (Hymenoptera: Encyrtidae) and its impact on fecundity, progeny production and sex ratio. *Biocontrol Science and Technology* **10**: 239–244.

SAMPAIO, M.V.; BUENO, V.H.P. & MALUF, R.P. 2001. Parasitismo de *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Aphidiidae) em diferentes densidades de *Mysus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). *Neotropical Entomology* **30**: 81–8.

SEQUEIRA, R; MACKAUER, M. 1992. Nutritional ecology of an insect host-parasitoid association: the pea aphid *Aphidius ervi* system. *Ecology* **73**: 183-189.

SIMÕES, R.A.; REIS, L.G.; BENTO, J.M.S.; SOLTER, L.F.; DELALIBERA, J.I. 2012. Biological and behavioral parameters of the parasitoid *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) are altered by the pathogen *Nosema* sp. (Microsporidia: Nosematidae). *Biological Control* **63**: 164-171.

STRAND, M.R. & PECH, L.L. 1995. Immunological basis for compatibility in parasitoid-host relationships. *Annual Review of Entomology* **40**: 31–56.

SILVA, I.M.; ZANUNCIO, T.V.; PEREIRA, J.M.M.; WILCKEN, C.F.; PEREIRA, F.F.; SERRÃO, J.E.; ZANUNCIO, J.C. 2014. Density of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae) pupae. *Bio One Entomological Society of America* **107**: 826-831.

SILVA-TORRES, C.S.A. & MATTHEWS, R.W. 2003. Development of *Melittobia australica* Girault and *M. digitata* Dahms (Parker) (Hymenoptera: Eulophidae) parasiting *Neollieria bullata* (Parker) (Diptera: Sarcophagidae) puparia. *Neotropical Entomology* **32**: 645–651.

SULLIVAN, D.J.; VÖLKL, W. 1999. Hyperparasitism: Multitrophic ecology and behavior. *Annual Review of Entomology* **44**: 291-315.

UÇKAN, F.; GULEL, A. 2002. Age-related fecundity and sex ratio variation in *Apanteles galleriae* (Braconidae) and host effect on fecundity and sex ratio of its

hyperparasitoid *Dibrachys boarmiae* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Journal of Applied Entomology* **126**: 534-537.

VARGAS, E.L.; PEREIRA, F.F.; TAVARES, M.T.; PASTORI, P.L. 2011. Record of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Diatraea* sp. (Lepidoptera: Crambidae) in sugarcane crop in Brazil. *Entomotropica* **26**: 135-138.

VARGAS, E.L.; PEREIRA, F.F.; CALADO, V.R.F, GLAESER, D.F.; CÁCERES, B.A.R. & SILVA, N.V. 2013. Densidade de fêmeas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) por pupa de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). *Sitientibus série Ciências Biológicas* **13**: 1-7.

ZACARIN, G.G.; GOBBI, N. & CHAUD, NETTO, J. 2004. 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* **94**: 139-147.

ZACHÉ, B.; WILCKEN, C.F.; ZACHÉ, R.R.C. & SOUZA, N.M. 2012. Novo registro de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), como parasitoide de *Spodoptera cosmioides* Walker, 1858 (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. *Biota Neotropica* **12**: 319-322.

Tabela 01 Médias (\pm erro padrão) das características biológicas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) nas densidades densidades 1:1, 7:1, 14:1, 21:1, 28:1 e 35:1 (parasitoide : hospedeiro), a $25\pm 2^\circ\text{C}$, $70\pm 10\%$ de (UR) e fotofase de 14 h.

Características Biológicas	Densidades						
	1:1	7:1	14:1	21:1	28:1	35:1	
Parasitismo (%)	94.00 \pm 0.04	100.00 \pm 0.00	100.00 \pm 0.00	100.00 \pm 0.00	100.00 \pm 0.00	100.00 \pm 0.00	n.s
Emergência (%)	96.00 \pm 0.02	98.00 \pm 2.00	100.00 \pm 2.00	98.00 \pm 2.00	94.00 \pm 3.00	100.00 \pm 0.00	n.s
Duração do ciclo de vida (dias)	16.52 \pm 0.24	16.00 \pm 0.00	16.25 \pm 0.27	16.60 \pm 0.40	16.40 \pm 0.27	16.00 \pm 0.00	n.s
Razão sexual***	0.78 \pm 0.04	0.88 \pm 0.02	0.88 \pm 0.00	0.92 \pm 0.00	0.85 \pm 0.01	0.81 \pm 0.01	n.s
Longevidade de fêmeas** (dias)	22.1 \pm 0.64	22.2 \pm 0.46	23.60 \pm 0.80	22.90 \pm 0.50	23.10 \pm 0.67	22.60 \pm 0.63	n.s

n.s= Não significativo ($p > 0,05$). *n° de indivíduos, **n° de dias e ***(n° de fêmeas/(n° de machos + n° de fêmeas)).

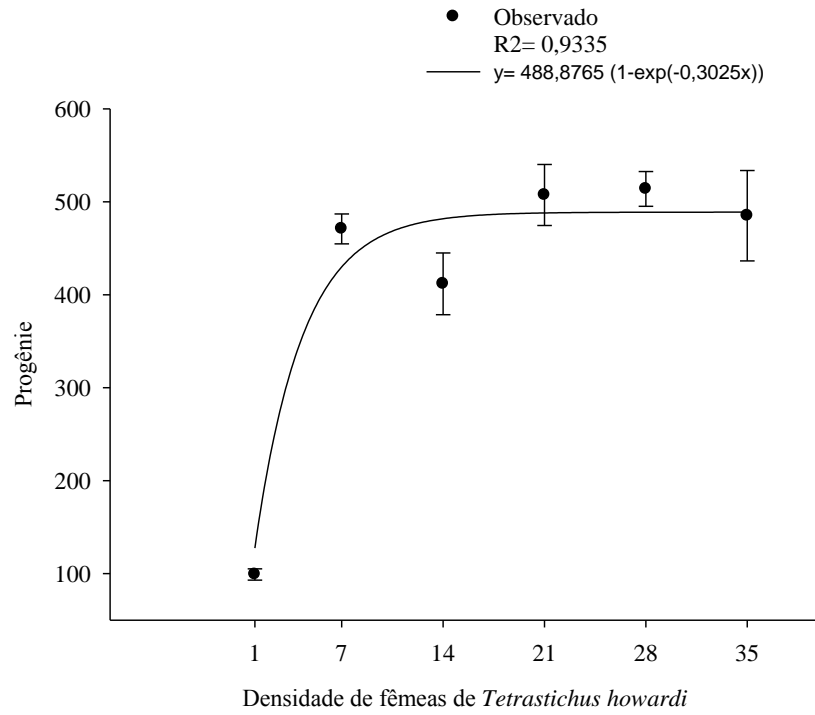


Figura 1. Progênie de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) criado em pupas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) nas densidades 1:1, 7:1, 14:1, 21:1, 28:1 e 35:1 (parasitoide: hospedeiro), a 25±2°C, 70±10% de (UR) e fotofase de 14 h.

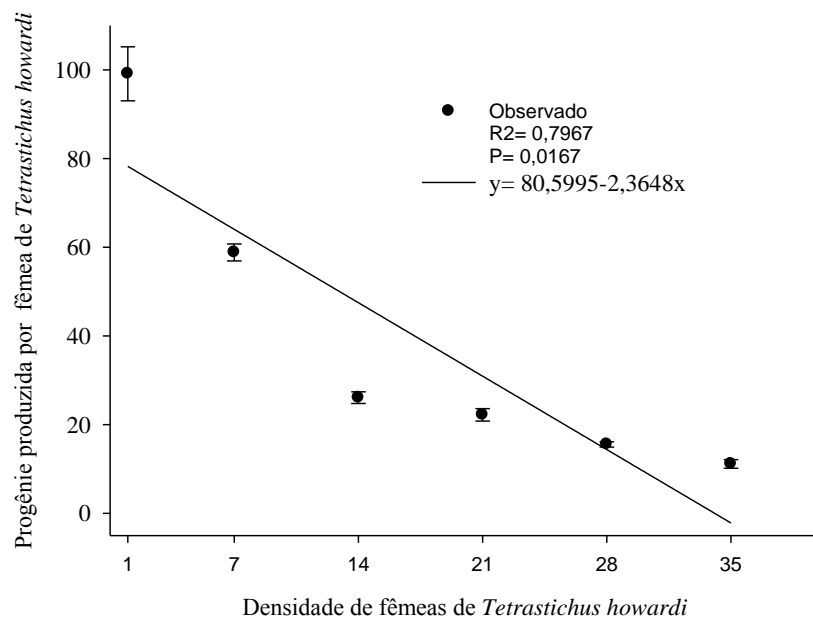


Figura 2. Progênie produzida por fêmea de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) criado em pupas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) nas densidades 1:1, 7:1, 14:1, 21:1, 28:1 e 35:1 (parasitoide: hospedeiro), a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de (UR) e fotofase de 14 h.

CONCLUSÕES GERAIS

Tetrastichus howardi parasitou três fases de desenvolvimento do hospedeiro *S. frugiperda*, lagarta, pré-pupa e pupa.

A multiplicação de *T. howardi* em pupas de idades diferentes de *S. frugiperda* não compromete a qualidade biológica do parasitoide, sendo esta a fase mais indicada para criação.

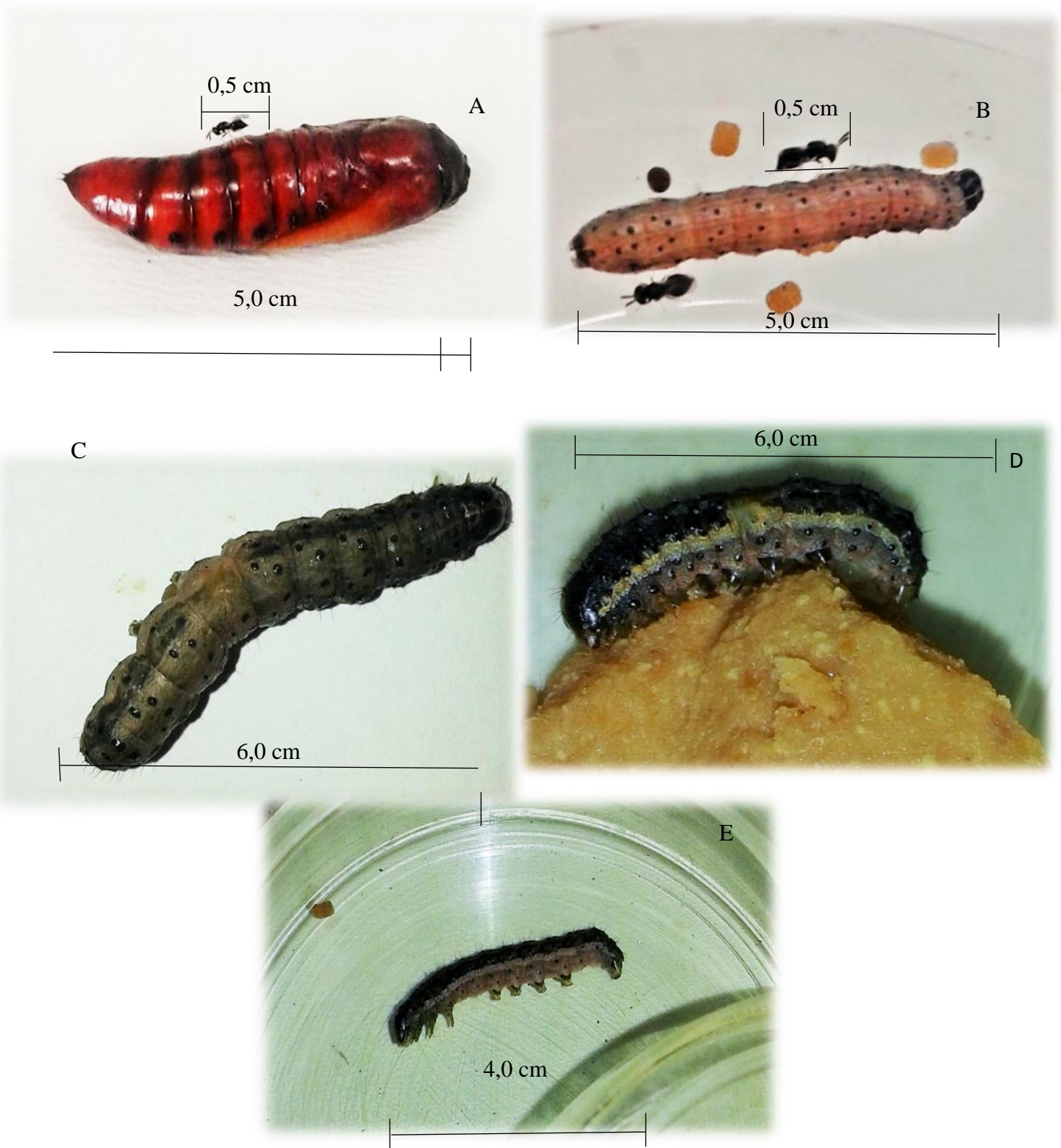
Tetrastichus howardi parasita lagartas de segundo, terceiro, quarto, quinto e sexto ínstars e pré-pupa de *S. frugiperda*, sendo que seu desenvolvimento e emergência ocorreram em lagartas de quinto e sexto ínstars e pré-pupa, na densidade de 7 fêmeas.

O maior parasitismo e melhor desenvolvimento de *T. howardi* ocorre pelo aumento do número de fêmeas por lagarta de *S. frugiperda*.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste trabalho registram o parasitismo de lagartas em diferentes ínstars de *S. frugiperda* por *T. howardi*. Além disso, proporcionam um melhor conhecimento do desempenho reprodutivo de *T. howardi* multiplicado em pupas de *S. frugiperda* sob diferentes idades do hospedeiro e densidades do parasitoide. Essas informações são importantes, pois podem contribuir para a otimização da multiplicação de *T. howardi* em laboratório, assim como para o planejamento de estudos visando o controle biológico da fase larval de *S. frugiperda* com este inimigo natural em condições de campo.

ANEXO



Fêmea de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitando pupa (A). Lagarta de 6^o instar de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) (B). Lagartas de *S. frugiperda* de sexto instar parasitadas com deformações morfológicas (C e D). Lagartas de *S. frugiperda* de quinto instar mortas devido ao parasitismo(E).