

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS**

**SELETIVIDADE DE INSETICIDAS A *Trichospilus  
diatraeae* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) E SEU  
DESENVOLVIMENTO EM PUPA DE *Chrysodeixis  
includens* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

**HELTER CARLOS PEREIRA**

**DOURADOS  
MATO GROSSO DO SUL  
2023**

**SELETIVIDADE DE INSETICIDAS A *Trichospilus diatraeae*  
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) E SEU  
DESENVOLVIMENTO EM PUPA DE *Chrysodeixis includens*  
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

HELTER CARLOS PEREIRA  
Mestre em Agronomia

Orientador: PROF. DR. FABRICIO FAGUNDES PEREIRA

Tese apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, para obtenção do título de Doutor.

Dourados  
Mato Grosso Do Sul  
2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

P436s Pereira, Helter Carlos

Seletividade de inseticidas a *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) e seu desenvolvimento em pupa de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) [recurso eletrônico]

/ Helter Carlos Pereira. -- 2023. Arquivo em formato pdf.

Orientador: Fabricio Fagundes Pereira.

Tese (Doutorado em Agronomia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2023. Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Controle biológico. 2. Lagarta-falsa-medideira. 3. Parasitoide. I. Pereira, Fabricio Fagundes.

II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

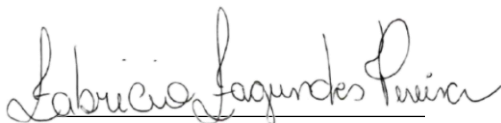
**SELETIVIDADE DE INSETICIDAS A *Trichospilus diatraeae*  
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) E SEU DESENVOLVIMENTO EM PUPA  
DE *Chrysodeixis includens* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

por


Helter Carlos Pereira

Tese apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de  
DOUTOR EM AGRONOMIA

Aprovada em: 23 de Fevereiro de 2023



Dr. Fabricio Fagundes Pereira  
Orientador/Presidente – UFGD



Dr. José Cola Zanuncio Membro  
Titular- UFV



Dr. Patrik Luiz Pastori  
Membro Titular UFGD



Dra. Jéssica Terilli Lucchetta  
Membro Titular – Sistêmica Kovê



Dra. Elizete Cavalcante de  
Souza Vieira  
Membro Titular- SoluBio  
Titular- UFGD

**Dedico**

Ao meu pai Horácio, à minha mãe Nilva

Aos meus irmãos Heber e Henrique

As cunhadas Tatiane e Leticia.

Aos sobrinhos Heber Jr. e Luis Henrique

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela vida, por guiar meus passos durante esta jornada, por ter me ouvido, por colocar pessoas incríveis no meu caminho e estar sempre comigo nos momentos de dificuldades e de alegrias, e por ter me dado suporte e força para lutar pelos meus objetivos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGAG), da Universidade Federal da Grande Dourados, pela oportunidade para a realização do doutorado. As secretarias do PPGAG, sempre competentes e prestativas, e ao coordenador o Prof. Dr. José Carlos Sorgatto pelo excelente trabalho neste programa.

Agradeço ao meu orientador Fabricio Fagundes Pereira, por me auxiliar, me direcionar e compartilhar seus conhecimentos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo suporte financeiro com a concessão da bolsa de estudos e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro para conduzir as pesquisas.

Aos Doutores da banca examinadora, pelo tempo dedicado à leitura e sugestões dadas a esta pesquisa.

A todos os professores, desde a educação básica até agora, que, certamente, contribuíram, com seus conhecimentos, para me tornar o ser humano que sou hoje.

Agradeço a todos os companheiros do Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL), por dividirem momentos de trabalho, estresse, cansaço e, também, de diversão. Em particular agradeço ao Alex pelas caronas, Augusto por toda ajuda e parceria, Valéria pelas conversas descontraídas e bate papo cabeça.

Agradeço a Jessica pelos cafés, caronas, por sempre ser prestativa, amável e uma amiga valiosa.

Agradeço aos meus estagiários Vitor e Lucas Verão, vocês tiveram papel essencial na criação dos insetos e execução dos experimentos e sem vocês, certamente o trabalho seria mais penoso.

Ao professor José Cola Zanuncio, pelo ensino e colaboração na escrita dos artigos científicos, sem dúvidas seus ensinamentos fizeram toda a diferença.

Agradeço a Winnie que foi minha amiga, irmã aqui em Dourados, que me ensinou a prática do laboratório com conselhos sobre o meio acadêmico e sobre a vida.

As amizades construídas no decorrer da minha carreira acadêmica: nos cursos de Biologia em Guaxupé, Agronomia em Pelotas, Mestrado em Pato Branco, e Doutorado em Dourados.

A Zenilda, sempre participativa mesmo de longe e a Hevelin por aguentar meu mau humor e por dividir o apartamento. Elizete, Marizete, Vinicius e Eduardo, pessoas incríveis da Entomologia. Helaine, amizade feita na graduação e mantida no Doutorado.

A minha amiga Fernanda que, mesmo estando em outro continente, sempre está presente, uma amizade construída em 2010 e até hoje forte e sólida.

Agradeço o apoio e o acolhimento recebido pelos membros da Igreja Presbiteriana Independente de Dourados, importantíssimo para o apoio físico e espiritual onde, nos momentos de maior aflição encontrei o suporte necessário. Agradeço aos Pastores por todo o aprendizado. Um agradecimento especial à Célula onde fiz amizades que me ajudaram a enfrentar as dificuldades. Muitas pessoas passaram por lá durante estes anos, e me marcaram, destacando-se: Cléber, Dener, Eduarda, Flávio, Francielo, Isa, Joabe, Juliano, Karina, Kyara, Larissa, Lucas, Marco, Rafael, Rafaela, Rafinha e Ricardo.

Agradeço imensamente a minha família, pelo meu pai Horácio, minha mãe Nilva, meus irmãos Héber e Henrique, por minhas cunhadas Tati e Letícia, por meus sobrinhos Luis Henrique e Heber Jr. Obrigado pelo carinho, pelas orações, pelo apoio financeiro nos momentos críticos, e pelo amor que me foi dado. Agradeço, também, a todos meus tios e primos que sempre me apoiaram e oraram por mim, amo vocês.

A cada pessoa que passou pela minha vida nesses anos, que acompanhou todos os desafios sempre com um abraço amigo, uma oração sincera ou palavra acolhedora, o meu mais profundo OBRIGADO! Pela paciência, amizade, companheirismo, sorrisos, lágrimas, medos e alegrias e acima de tudo, AMOR!

## BIOGRAFIA

**Helter Carlos Pereira**, filho de dois pequenos cafeicultores, Horácio Pereira Junior e Nilva de Sousa Pereira, natural de uma pequena cidade chamada Muzambinho, Estado de Minas Gerais, Brasil. Criado em ambiente rural, foi o primeiro da família materna e paterna a se graduar em uma faculdade pública e o primeiro a terminar um doutorado.

Cursou o ensino fundamental e ensino médio no Colégio Estadual Prof. Pedro Saturnino de Magalhães, na cidade de Cabo Verde, finalizando em 2004. Em 2006, ingressou no curso de Ciências Biológicas no Centro Universitário da Fundação Educacional de Guaxupé em Guaxupé (UNIFEG), Minas Gerais, onde através do Programa de Iniciação Científica (PIC) com a orientação da Prof. Dra. Isabel Ribeiro do Valle Teixeira, obteve meu primeiro contato científico com a entomologia, recebendo o título de Licenciado em Ciências Biológicas no final de 2008.

Em 2010, ingressou no curso de Agronomia (Bacharelado) na Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Rio Grande do Sul, onde no primeiro semestre começou um estágio com o Professor Dr. Alci Enimar Loeck, no combate de formigas cortadeiras. No segundo ano de faculdade se tornou estagiário bolsista de iniciação científica da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA- Clima Temperado) sob a orientação do professor Dr. Dori Edson Nava, onde auxiliou em pesquisas de utilização de parasitoides no manejo de pragas de frutíferas (moscas-das-frutas) e, neste mesmo ano, se tornou membro do Programa de Educação Tutorial (PET-Agronomia), onde trabalhou com pesquisa, extensão e cultura. Em 2013/2014 teve a possibilidade de participar de um intercâmbio acadêmico na cidade de Bolonha, Itália, na Universidade Alma Mater Studiorum Università Di Bologna- UNIBO, onde realizou um estágio atuando na criação e manutenção de insetos parasitoides e predadores e seus hospedeiros, sob a orientação da Professora Dra. Maria Luiza Dindo. Em 2016 recebeu o título de Engenheiro Agrônomo.

Iniciou, em 2017, o Curso de Mestrado em Agronomia na Universidade Federal Tecnológica do Paraná - Campus Pato Branco, sob a orientação do Professor Dr. Gilberto Santos Andrade, onde defendeu sua dissertação com ênfase ao controle biológico com parasitoide de um lepidóptero praga de hortaliças. No início de 2018, iniciou o Doutorado em Agronomia na Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), sob a orientação do Professor Dr. Fabricio Fagundes Pereira, submetendo-se a defesa de sua tese no início em 23 de fevereiro de 2023.



**“Se algum de vocês tem falta de sabedoria,  
peça-a a Deus, que a todos dá livremente,  
de boa vontade; e lhe será concedida”.**

**Tiago 1:5**

## SUMÁRIO

	PÁGINA
LISTA DE QUADROS – CAPÍTULO I .....	XV
LISTA DE QUADROS – CAPÍTULO II .....	XV
LISTA DE FIGURAS – CAPÍTULO II .....	XV
LISTA DE QUADROS- CAPITULO III.....	XVI
LISTA DE FIGURAS - CAPITULO III.....	XVI
LISTA DE QUADROS - CAPITULO IV.....	XVI
LISTA FIGURA- CAPITULO IV.....	XVI
RESUMO GERAL.....	XVIII
ABSTRACT.....	XIX
INTRODUÇÃO.....	1
REVISÃO DE LITERATURA.....	3
Importância da cultura da soja.....	3
<i>Chrysodeixis includens</i> .....	3
Manejo Integrado de Pragas .....	4
<i>Trichospilus diatraeae</i> .....	5
Armazenamento de pupas em baixa temperatura .....	6
Seletividade de inseticidas .....	7
OBJETIVO GERAL.....	8
Objetivos específicos .....	8
HIPÓTESE(S).....	9
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	10
CAPÍTULO I – Reprodução de <i>Trichospilus diatraeae</i> em pupas de <i>Chrysodeixis includens</i> com diferentes períodos de parasitismo .....	14
RESUMO.....	14
ABSTRACT.....	15
INTRODUÇÃO .....	16
MATERIAL E MÉTODOS .....	18
Localização do experimento .....	18
Criação do hospedeiro para condução dos experimentos .....	18
Criação <i>Trichospilus diatraeae</i> para o experimento .....	19
Desenvolvimento experimental.....	19
Análise estatística.....	20

RESULTADOS .....	21
DISCUSSÃO .....	22
CONCLUSÃO .....	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	25
CAPÍTULO II –Reprodução de <i>Trichospilus diatraeae</i> em pupas de <i>Chrysodeixis includens</i> de diferentes idades .....	30
RESUMO.....	30
ABSTRACT.....	31
INTRODUÇÃO .....	32
MATERIAL E MÉTODOS .....	34
Localização do experimento.....	34
Criação do hospedeiro para condução do experimento.....	34
Criação dos parasitoides para o experimento.....	35
Desenvolvimento experimental.....	35
Análise estatística.....	36
RESULTADOS .....	37
DISCUSSÃO .....	38
CONCLUSÃO .....	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	41
CAPÍTULO III –Reprodução de <i>Trichospilus diatraeae</i> (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de <i>Chrysodeixis includens</i> (Lepidoptera: Noctuidae) refrigeradas.....	51
RESUMO.....	51
ABSTRACT.....	52
INTRODUÇÃO .....	53
MATERIAL E MÉTODOS .....	55
Localização do experimento.....	55
Criação do hospedeiro para condução do experimento.....	55
Criação dos parasitoides para o experimento.....	56
Desenvolvimento experimental armazenamento de pupas.....	56
Análise estatística.....	57
RESULTADOS .....	58
DISCUSSÃO .....	59
CONCLUSÃO .....	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	62
CAPÍTULO IV – Seletividade de inseticidas utilizados no controle de lagartas da soja ao parasitoide pupal <i>Trichospilus diatraeae</i> (Hymenoptera: Eulophidae) .....	68

RESUMO.....	68
ABSTRACT.....	69
INTRODUÇÃO .....	70
MATERIAL E MÉTODOS .....	72
Localização do experimento.....	72
Semeadura de soja [ <i>Glycine max</i> (L.) Merrill].....	72
Sistema ASPECLE.....	72
Inseticidas utilizados.....	72
Criação e manutenção de <i>Trichospilus diatraeae</i> .....	73
Exposição de <i>Trichospilus diatraeae</i> a diferentes inseticidas.....	73
Mortalidade de <i>Trichospilus diatraeae</i> .....	73
Sobrevivência de <i>Trichospilus diatraeae</i> .....	74
RESULTADOS .....	75
DISCUSSÃO .....	76
CONCLUSÃO .....	79
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	80
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	89
ANEXOS .....	90

## LISTA DE QUADROS – CAPÍTULO I

- QUADRO 1.** Parasitismo (Par), emergência (Em), ciclo de vida (ovo – adulto), progênie total e razão sexual de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) com períodos de parasitismo de 24 a 144 horas em pupas de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae), a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 h.....20
- QUADRO 2.** Longevidade de machos e fêmeas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) com diferentes períodos de parasitismo de 24 a 144 horas em pupas de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae), a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14h ..... 21

## LISTA DE QUADROS – CAPÍTULO II

- QUADRO 1.** Ciclo de vida (ovo – adulto) (CV) e razão sexual (RS) de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) de diferentes idades, a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 h.....35

## LISTA DE FIGURAS – CAPÍTULO II

- FIGURA 1.** Parasitismo (%) de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) com variação na idade das pupas de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae), a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 h ( $P = 0,005$  e  $F = 63,8905$ ) .....35
- FIGURA 2.** Emergência (%) *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) com variação na idade das pupas de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 h ( $P = 0,0076$  e  $F = 37,1869$ ) .....36
- FIGURA 3.** Progênie total (número de descendentes emergidos) de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em função da variação na idade das pupas de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae), a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 h. ( $P = 0,0260$  e  $F = 15,5993$ ) .....36
- FIGURA 4.** Longevidade de fêmeas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em função da variação na idade das pupas de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae), a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 h. ( $P = 0,0155$  e  $F = 22,5967$ ) .....37
- FIGURA 5.** Longevidade de machos (dias) de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em função da variação na idade das pupas de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae), a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 h.

(P= 0,0493 e F= 9,6637) .....	38
-------------------------------	----

### LISTA DE QUADROS – CAPÍTULO III

<b>QUADRO 1.</b> Parasitismo (%), ciclo de vida (ovo – adulto), razão sexual (RS) e longevidade (Long.) de fêmeas de <i>Trichospilus diatraeae</i> (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de <i>Chrysodeixis includens</i> (Lepidoptera: Noctuidae) após armazenamento a 7,86 °C, 70 ± 10% de umidade relativa e armazenamento por 0, 5, 10, 15, 20, 25 ou 30 dias .....	51
--	----

### LISTA DE FIGURAS – CAPÍTULO III

<b>FIGURA 1.</b> Emergência (%) <i>Trichospilus diatraeae</i> (Hymenoptera: Eulophidae) com variação no período de armazenamento em baixa temperatura de pupas de <i>Chrysodeixis includens</i> (Lepidoptera: Noctuidae), após armazenamento a 7,86 °C, por 0, 5, 10, 15, 20, 25 ou 30 dias.....	52
--	----

<b>FIGURA 2.</b> Progenie total (número de descendentes emergidos) de <i>Trichospilus diatraeae</i> (Hymenoptera: Eulophidae) com variação no período de armazenamento em baixa temperatura de pupas de <i>Chrysodeixis includens</i> (Lepidoptera: Noctuidae), a 7,86°C .....	53
--	----

### LISTA DE QUADROS – CAPÍTULO IV

<b>QUADRO 1.</b> Ingredientes ativos (I.As), nomes comerciais (NM), grupo químico, produto comercial (PC), concentração de ingrediente ativo (I.A.) e classificação toxicológica (CT) dos inseticidas; acefato, azadiractina, <i>Bacillus thuringiensis</i> (B.t.), deltametrina, lufenuron, teflubenzurom (Teflub.) e tiametoxam + lambda-cialotrina (T. + Lc) recomendados para o manejo de lagartas desfolhadoras na cultura da soja (AGROFIT, 2022).....	68
--	----

<b>QUADRO 2.</b> Porcentagem de mortalidade (média ± erro padrão) e classe de toxicidade (CT) para fêmeas de <i>Trichospilus diatraeae</i> (Hymenoptera: Eulophidae) em teste de seletividade de acordo com a Organização Internacional para Controle Biológico (IOBC) em diferentes inseticidas (Tratamentos).....	69
---	----

### LISTA DE FIGURAS – CAPÍTULO IV

<b>FIGURA 1.</b> Sistema Avaliação de Pesticidas Seletividade em Condições de Laboratório Estendido (ASPECLE).....	67
--	----

<b>FIGURA 2.</b> Sobrevivência, até 120 horas, de <i>Trichospilus diatraeae</i> (Hymenoptera: Eulophidae) após exposição aos inseticidas, acefato (Acefato), azadiractina (Aza), <i>Bacillus thuringiensis</i> (BT), deltametrina (Delta), lufenuron (Luf), teflubenzuron	
---	--

(Teflu), tiametoxam +lambda-cialotrina (T. + LC) e o controle (Água). Pares de comparações entre curvas de sobrevivência estimadas pelo método Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank ( $P < 0,05$ ) .....70

**FIGURA 3.** Sobrevivência em horas (Média + EP) de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) entre 24 e 120 horas após exposição aos inseticidas e no controle.....71

## RESUMO GERAL

Fatores como o período de parasitismo, idade da pupa hospedeira e temperatura afetam o parasitoide pupal *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) Cherian & Margabandhu, 1942 e o conhecimento dos mesmos é fundamental para o desenvolvimento de técnicas de criação desse inimigo natural. Além disso, testes de seletividade de inseticidas são importantes para se determinar a mortalidade da entomofauna benéfica. A lagarta falsa-medideira da soja, *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]), é polífaga danificando diferentes plantas, incluindo soja, algodão, feijão e girassol. O objetivo foi avaliar as características biológicas de *T. diatraeae* em pupas de *C. includens* e determinar a seletividade de inseticidas utilizados na cultura da soja à esse parasitoide. No primeiro experimento, pupas de *C. includens* com 24 horas de idade foram individualizadas e expostas ao parasitismo por *T. diatraeae* com 48 horas de idade, por 24, 48, 72, 96, 120 ou 144 horas. No segundo experimento, pupas de *C. includens* com 24, 48, 72, 96, 120, 144 ou 168 horas de idade foram expostas ao parasitismo por fêmeas adultas de *T. diatraeae* de 48 horas (alimentadas e acasaladas), na densidade de 5:1 parasitoide/hospedeiro. No terceiro experimento, trezentos e cinquenta pupas de *C. includens*, com 24h de idade foram armazenadas na parte inferior da geladeira a  $7,86 \pm 2$  °C por cinco, dez, 15, 20, 25 e 30 dias e o controle foi com pupas sem armazenamento. Após o período de armazenamento, as pupas foram individualizadas com uma fêmea de *T. diatraeae* de 48 horas de idade (acasalada e alimentada por 24 horas). No quarto experimento, os inseticidas acefato, azadiractina, *Bacillus thuringiensis* (Bt), deltametrina, lufenuron, teflubenzuron e tiametoxam + lambda-cialotrina, foram utilizados, tendo água no controle. Os inseticidas foram borrifados em folhas de soja, deixadas para secar naturalmente, e cinco folhas colocadas por gaiola com 10 fêmeas de *T. diatraeae*, cada uma, utilizando o sistema ASPECLE (Avaliação da Seletividade de Pesticidas em Condições de Laboratório Estendido). No primeiro experimento, o parasitismo entre 24 a 144 h foi o mais adequado para multiplicar *T. diatraeae* em pupas de *C. includens*. No segundo experimento, fêmeas de *T. diatraeae* parasitaram e se desenvolveram em pupas de *C. includens* de todas as idades, mas as com 24 a 72 horas de idade foram mais adequadas. No terceiro experimento, fêmeas de *T. diatraeae* parasitaram e se desenvolveram em pupas de *C. includens*, após armazenamento e temperatura 7,86°C em todos os períodos, sendo o até 15 dias, mais indicado para a produção desse parasitoide. No quarto experimento, os inseticidas azadiractina, Bt, lufenuron e teflubenzuron não causaram mortalidade de *T. diatraeae* em 24 horas de contato e, portanto, são seletivos para esse parasitoide. A deltametrina e o tiametoxam + lambda-cialotrina foram pouco tóxicos e o acefato tóxico, causaram 100% de mortalidade de adultos de *T. diatraeae*. Este trabalho registra, pela primeira vez, as características biológicas de *T. diatraeae* em pupas de *C. includens* em laboratório. Os resultados obtidos contribuem para o aprimoramento de técnicas de multiplicação de *T. diatraeae* com qualidade para de estudos científicos ou produção massal desse parasitoide. O conhecimento de inseticidas seletivos a *T. diatraeae* é fundamental para o manejo integrado de *C. includens*, principalmente na cultura da soja.

**Palavras-chave:** Controle biológico; Lagarta-falsa-medideira; parasitoide.



## ABSTRACT

Knowledge of how the factors; period of parasitism, age of the host pupa and temperature interfere with the pupal parasitoid *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 is fundamental for the development of breeding techniques for this natural enemy. In addition, insecticide selectivity tests are important to determine the mortality of beneficial entomofauna. *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) is known as the soybean bollworm. This insect has a polyphagous character, causing damage to several crops, such as soybeans, cotton, beans and sunflower. The objective was to evaluate the biological characteristics of *T. diatraeae* in pupae of *C. includens* in different circumstances and to determine the selectivity of insecticides used in soybean cultivation for the parasitoid. In the first experiment, 24-hour-old *C. includens* pupae were individualized and exposed to 48-hour-old *T. diatraeae* parasitism, for periods of 24, 48, 72, 96, 120 or 144 hours. In the second experiment, pupae of *C. includens* aged 24, 48, 72, 96, 120, 144 or 168 hours were exposed to the parasitism of adult females of *T. diatraeae* aged 48 hours (already fed and mated), at the density of 5:1 parasitoid/host. In the third experiment, three hundred and fifty pupae of *C. includens*, aged 24 hours, were stored in the lower part of the refrigerator at  $7.86 \pm 2$  °C for five, ten, 15, 20, 25 and 30 days and no storage as a control. After the storage period, the pupae were individualized with a 48-hour old *T. diatraeae* female, already mated and fed for 24 hours. In the fourth experiment, the insecticides acephate, azadirachtin, *Bacillus thuringiensis* (Bt), deltamethrin, lufenuron, teflubenzuron and thiamethoxam + lambda-cyhalothrin were used, being the control with water. Insecticides were sprayed on soybean leaves, left to dry naturally, and placed five leaves per cage with 10 female *T. diatraeae* using the ASPECLE system (Assessment of Pesticide Selectivity under Extended Laboratory Conditions). In the first experiment, the parasitism range between 24 and 144 h is the most adequate for the multiplication of *T. diatraeae* in pupae of *C. includens*. In the second experiment, *T. diatraeae* females were able to parasitize and devolve into *C. includens* pupae at all evaluated ages, with pupae between 24 and 72 hours old being the most appropriate. In the third experiment, females of *T. diatraeae* parasitize and develop in pupae of *C. includens* stored at low temperature, at an average temperature of 7.86°C in all storage periods, with the period up to 15 days being the longest. Indicated for the production of this parasitoid on a large scale. And in the fourth experiment, the insecticides azadirachtin, Bt, lufenuron and teflubenzuron did not cause mortality of *T. diatraeae* within 24 hours of contact and, therefore, are selective for this parasitoid. Deltamethrin and thiamethoxam + lambda-cyhalothrin were slightly toxic and acephate toxic, causing 100% mortality in *T. diatraeae* adults. The results obtained in the works of this thesis contribute to the improvement of the *T. diatraeae* multiplication technique, aiming at obtaining this biological control agent with quality for the accomplishment of scientific studies or for the establishment of mass multiplication. In addition, knowledge of selective insecticides against *T. diatraeae* is essential for the integrated management of *C. includens*, mainly in soybeans.

**Key words:** Biological control; parasitoid; False Soaring Caterpillar

## INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é o maior produtor de soja do mundo, com produção projetada de aproximadamente 150,36 milhões de toneladas do grão e com estimativa de 42,4 milhões de hectares de área plantada (CONAB, 2022). Monoculturas de soja em grandes áreas e o manejo indiscriminado com agrotóxicos, aumenta a mortalidade de fungos e inimigos naturais que controlavam naturalmente diversas pragas, antes consideradas sem importância econômica e, com isso, favorecendo às mesmas atingirem níveis de importância agrícola, um exemplo é a *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae) (SPECHT et al., 2015; BOTELHO et al., 2019).

O lepidóptero praga *C. includens* se alimenta de diferentes plantas importantes para a agricultura, incluindo girassol, soja, feijão e algodão (SPECHT et al., 2015). Lagartas, desse inseto, passam por seis instares com duração de 14 a 20 dias quando causam danos às plantas (SOSA-GOMÉZ et al., 2014).

O controle químico é o mais utilizado, difundido e de fácil acesso para os produtores rurais no manejo de *C. includens* (ZULIN et al., 2018; STACKE et al., 2019). O Manejo Integrado de Pragas (MIP) é uma alternativa para a agricultura tradicional de forma mais sustentável e com menor contaminação ambiental (PANIZZI e PARRA, 2009; VAN-LENTEREN et al., 2017).

O controle biológico é uma ferramenta importante no MIP com a utilização de macro e micro organismos no manejo de insetos pragas, incluindo insetos predadores e parasitoides no controle de uma diversidade de insetos pragas. Parasitoides se desenvolvem em outros insetos e geralmente no final do seu ciclo acarreta a morte do hospedeiro. Parasitoides são utilizados no manejo de insetos pragas que causam danos em culturas de interesse agrícola, regulando a densidade populacional do inseto-praga (BUENO et al., 2022).

A criação de parasitoides em laboratório é etapa importante no controle biológico. Isto torna necessário se avaliar os principais fatores deste processo, incluindo o parasitismo, emergência, duração do ciclo (ovo-adulto), progênie, progênie por fêmea, razão sexual, longevidade de machos e fêmeas em criações de parasitoide. Além disso, densidade do parasitoide, espécies do hospedeiro, período de exposição, técnicas de armazenamento do hospedeiro, idade do hospedeiro e idade do parasitoide são, também,

utilizados para se avaliar a eficiência de parasitoide (FERNANDES, 2018; TIAGO, 2019; PEREIRA et al., 2021; BARBOSA et al., 2022)

*Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) é um parasitoide polífago descrito em diversos lepidópteros-praga, incluindo *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae), *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae), *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), *Diatraea venosata* Walker, 1863 (Lepidoptera: Pyralidae), *Spodoptera cosmioides* Walker, 1858 (Lepidoptera: Noctuidae), *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) (NHM, 2020)

Além do controle biológico com parasitoides, utilizados no MIP de pragas, se utiliza de inseticidas. Inseticidas seletivos devem ser priorizados pois, controlam o inseto-praga minimizando o impacto na entomofauna benéfica como polinizadores e insetos predadores e parasitoides (PANIZZI e PARRA, 2009).

O objetivo foi avaliar as características biológicas de *T. diatraeae* criado em pupas de *C. includens* em laboratório e determinar a seletividade de inseticidas a este parasitoide.

## REVISÃO DE LITERATURA

### **Importância da cultura da soja [*Glycine max* (L.) Merrill]**

Folhas da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) (Magnoliopsida: Fabales: Fabaceae: Faboideae) são trifolioladas (exceto o primeiro par de folhas simples, no nó acima do nó cotiledonar). Flores dessa planta são de fecundação autógama, típicas da subfamília Faboideae, de cor branca, roxa ou intermediária. Vagens (legumes) dessa planta são, levemente, arqueadas e, à medida que amadurecem, mudam da cor verde para amarelo-pálido, marrom-claro, marrom ou cinza, com uma a cinco sementes lisas, elípticas ou globosas, de tegumento amarelo pálido, com hilo preto, marrom ou amarelo-palha. O crescimento de plantas de *G. max* pode ser indeterminado (sem racemo terminal), determinado (com racemo terminal) ou semi-determinado (intermediário) (BAHRY, 2013).

A origem da soja é, possivelmente, da China, tendo sido domesticada a partir do século XI a.C. como relatado no livro "Pen Ts'ao Kong Mu" escrito entre 2883 e 2838 a.C. A soja, como o trigo, o arroz e a cevada, era considerada um grão sagrado. Essa planta foi distribuída a partir do século XV pela Europa como uma planta em jardins botânicos (GAZZONI, 2018). O Brasil é o maior produtor de soja. A produção brasileira está estimada em cerca de 150,36 milhões de toneladas, safra 2022/2023, sendo a principal cultura em extensão de área no país. Os estados com a maior produtividade no Brasil são o Mato Grosso, Paraná, Goiás, Rio Grande do Sul e Mato Grosso do Sul, com uma produção de cerca de 35,9, 19,7, 13,7, 20,2 e 8,9 milhões de toneladas em plantio de cerca de 10,3, 5,6, 3,7, 6,0 e 3,5 milhões de hectares. A área plantada no Mato Grosso do Sul é de 3,5 milhões de hectares e a previsão de 8,9 milhões de toneladas na safra 2021/2022 (CONAB, 2022).

### ***Chrysodeixis includens***

*Chrysodeixis includens* (Noctuidae: Plusiinae) é conhecida como falsa-medideira devido a sua locomoção em "mede palmo". Esta mariposa descrita como *Pseudoplusia includens* foi, após o avanço das técnicas de biologia molecular colocada no gênero *Chrysodeixis* (GOATER et al., 2003). *Chrysodeixis includens* é uma espécie polífaga e relatada em 174 plantas hospedeiras de 39 famílias botânicas, incluindo algumas de grande importância agrônômica, como soja (*G. max*), algodão

(*Gossypium hirsutum* L.), feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), couve (*Brassica oleracea* L.), girassol (*Helianthus annuus* L.), tomate (*Solanum* spp.) e batata (*Solanum tuberosum* L.) no Brasil (SPECHT et al., 2015).

Lagartas de *C. includens* se alimentam do parênquima deixando as nervuras do limbo foliar com duração dessa fase entre 14 a 20 dias dependendo da temperatura e atingindo 40 a 45 mm de comprimento no último instar. As fases de pupa, de *C. includens* ocorre sob uma teia produzida pela lagarta, em geral, na face abaxial das folhas (SOSA-GOMÉZ et al., 2014).

*Chrysodeixis includens* foi relatada em todo o continente Americano desde o norte do Estados Unidos ao Sul da América do Sul desde meados da safra 2003/2004. Esse inseto era praga secundária na cultura da soja e suas populações mantidas baixas por insetos predadores e parasitoides, além de fungos entomopatogênicos. O uso excessivo e/ou incorreto de inseticidas e fungicidas não seletivos, estes últimos para o controle da ferrugem-asiática reduziram o desenvolvimento do fungo entomopatogênico *Metarhizium rileyi anisopliae* (Farlow), o principal controlador natural de *C. includens* (SPECHT et al., 2015; BOTELHO, et al., 2019). O hábito das lagartas de *C. includens* permanecem, principalmente, na parte inferior das plantas de soja onde a mistura do inseticida não consegue penetrar devido a área foliar da planta, também dificulta a eficiência de inseticidas (ZULIN et al., 2018).

O controle de *C. includens* é feito, principalmente, com químicos e relatos de populações desse inseto resistentes a inseticidas como lambda-cialotrina, metoxifenoazida e teflubenzuron foram feitos (STACKE et al., 2019). A aplicação desses produtos pode reduzir o controle natural dessa praga em plantas cultivadas (VIEIRA et al., 2019).

### **Manejo Integrado de Pragas**

O Manejo Integrado de Pragas (MIP) propõe uma alternativa ambiental e econômica viável ao controle tradicional de pragas, com predominância de inseticidas sintéticos. O MIP consiste-se baseia na utilização de diferentes técnicas para o manejo de insetos pragas. O monitoramento constante de insetos nocivos e benéficos na lavoura é a base do MIP, permitindo-se conhecer o inseto que está causando prejuízos e o nível de dano e presença de inimigos naturais na área. Depois calcula-se o prejuízo causado por cultura para a tomada ou não de decisão de controle. O controle deve ser feito com

a estratégia mais eficiente utilizando táticas isoladas ou em conjunto, priorizando métodos menos impactantes ao meio ambiente como o cultural, biológico, genético, comportamental e varietal, além do químico, como última opção (PANIZZI e PARRA, 2009; VAN-LENTEREN et al., 2017).

O controle biológico é importante em programas de manejo integrado de pragas visando diminuir o número de plantas e animais utilizando inimigos naturais como agentes de mortalidade biótica. Insetos, ácaros, e microrganismos como vírus, fungos, bactérias, nematóides e protozoários se destacam no controle biológico. O primeiro grande caso de sucesso de controle biológico foi em 1888, na Califórnia com a introdução do predador *Rodolia cardinalis* (Mulsant, 1850) (Coleoptera: Coccinellidae) de origem australiana, para controlar *Icerya purchasi* Maskell, 1879 (pulgão branco ou cochonilha australiana) (Hemiptera: Monophlebidae) (PARRA, 2014; VAN-LENTEREN et al., 2017; PARRA et al., 2021;).

O controle biológico aplicado com parasitoides é um componente importante de programas de MIP (PARRA et al., 2002). Insetos parasitoides, mais utilizados no controle biológico são da ordem Hymenoptera e, em menor quantidade, de Diptera. As principais famílias dos Hymenoptera parasitoides são Braconidae, Ichneumonidae, Eulophidae, Pteromalidae, Encyrtidae, Aphelinidae. Parasitoides da ordem Diptera são, principalmente, na família Tachinidae. Insetos predadores são, principalmente, das famílias: Anthocoridae, Pentatomidae, Reduviidae, Carabidae, Coccinellidae, Staphylinidae, Chrysopidae, Cecidomyiidae, Syrphidae e Formicidae (PARRA et al., 2002).

A eficiência biológica de parasitoides pode ser determinada pela avaliação do parasitismo, emergência, progênie, razão sexual, duração do ciclo de vida, longevidade de adultos criados no inseto-praga considerado alvo em laboratório, semi-campo e campo (TIAGO, 2019). Por isso, necessário se estudar a biologia comparativa de parasitoides nas mesmas condições. Parasitoide com maiores taxas de fecundidade e crescimento populacional são melhores (RINCÓN, 2001).

### ***Trichospilus diatraeae***

*Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) foi obtido de pupas de *Diatraea venosata* Walker, 1863, a broca-da-haste das gramíneas e descrito em 1942 no Sul da Índia (CHERIAN e MARGABANDHU, 1942).

*Trichospilus diatraeae* foi, mais tarde, relatado em diferentes países e continentes, incluindo a Ásia, Oceania, África, América do Norte, América Central e América do Sul e em vários estados do Brasil, como Minas Gerais, São Paulo, Brasília (NHM, 2020) e Mato Grosso do Sul (LUCCHETTA et al., 2022).

O primeiro registro de *T. diatraeae* no Brasil foi em 1996 originado de uma pupa parasitada de de uma espécie de Arctiidae (Lepidoptera) no campus da ESALQ em Piracicaba SP (PARON e BERTI-FILHO, 2000).

*Trichospilus diatraeae*, parasitoide polífago, foi relatado parasitando lepidópteros-praga de importância agrícola como *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae), *Diatraea venosata* Walker, 1863 (Lepidoptera: Pyralidae), *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae), *Spodoptera cosmioides* Walker, 1858 (Lepidoptera: Noctuidae), *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) (NHM, 2020). Esse parasitóide foi relatado, também, parasitando pupas *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae) com desenvolvimento adequado em laboratório (FAVERO et al., 2013).

Machos e fêmeas de *T. diatraeae* são separados de acordo com as características morfológicas da antena (fêmeas com inserção das antenas na parte central da cabeça em formato de V e, nos machos a inserção é lateralmente em formato de U) e do aparelho bucal da fêmea que é mais desenvolvido e nos machos, sem presença, além dos olhos da fêmea em formato riniforme e do macho oval (PARON, 1999) (Anexo 3).

A utilização de *T. diatraeae*, em programas de controle biológico, é uma alternativa viável, por se reproduzir bem em várias espécies de hospedeiros e, facilmente, produzido (OLIVEIRA et al., 2018).

### **Armazenamento de pupas em baixa temperatura**

Hospedeiros alternativos, com metodologia de criação conhecida e boa adequação para o parasitoide e custo baixo de produção podem viabilizar a criação de insetos parasitoides (PARRA et al., 2002).

O armazenamento do inseto hospedeiro aumenta o tempo de vida do inseto hospedeiro para ser utilizado na criação contínua de parasitoides (PRATISSOLI et al., 2003). O armazenamento de hospedeiros para eulofídeos facilita a disponibilidade dos

parasitoides por períodos mais longos reduzindo os custos de produção. O armazenamento em baixa temperatura é o melhor método para conservar pupas de Lepidoptera. No entanto, muitos insetos podem não sobreviverem após armazenados em baixa temperatura, tornando necessário se estudar se o estresse induzido pelo frio pode reduzir a qualidade do inseto ou causar sua morte (PEREIRA et al., 2021).

### **Seletividade de inseticidas**

A seletividade de produtos químicos a insetos pode ser fisiológica ou ecológica (CARVALHO et al., 2021).

A seletividade ecológica está relacionada com a forma e o horário de aplicação do inseticida, priorizando os horários com menor incidência de inimigos naturais e insetos benéficos como os polinizadores. Além disso, deve utilizar ferramentas que se direcionem os químicos, apenas, ao inseto-praga como o uso de bcos adequados na aplicação do inseticida para a área da planta com a praga (FERNANDES et al., 2010; CARVALHO et al., 2021).

A seletividade fisiológica está relacionada à toxicidade de um inseticida, sendo o mesmo mais tolerado pelo inimigo natural ou inseto benéfico pode por ingestão, contato direto ou indireto. A seletividade fisiológica visa causar maior mortalidade do inseto-praga com danos reduzidos na entomofauna benéfica pelos inseticidas (FERNANDES et al., 2010; CARVALHO et al., 2021).

Inseticidas seletivos são uma alternativa dentro do MIP por causarem danos reduzidos a insetos benéficos como predadores e parasitoides (MIRANDA, 2010).

O controle biológico, por parasitoides e predadores em plantações ocorre, naturalmente, ao se alimentarem ou utilizarem insetos pragas para sua reprodução e desenvolvimento. Inseticidas não seletivos causam mortalidade de insetos e daqueles benéficos (PINHEIRO et al., 2018).

O uso constante de inseticidas e a reduzida preocupação com a fauna e flora local levaram a criação em 1974 da International Organization of Biological Control (IOBC), cujos objetivos são regulamentar e padronizar os testes de seletividade de agrotóxicos em organismos benéficos (CAMPOS, 2019; SANOMIA et al., 2020).



## OBJETIVO GERAL

Avaliar as características biológicas de *T. diatraeae* criado em pupas de *C. includens* em laboratório e determinar a seletividade de inseticidas a este parasitoide.

### Objetivos Específicos

- Avaliar as características biológicas de *T. diatraeae* em pupas de *C. includens* em função de diferentes períodos de contato desse parasitoide com a pupa hospedeira, visando sua multiplicação.
- Avaliar a influência da idade de pupas de *C. includens* no parasitismo e desenvolvimento de *T. diatraeae*.
- Avaliar a progênie de *T. diatraeae* em pupas de *C. includens*, previamente, armazenadas a  $7,86 \pm 2$  °C por diferentes períodos.
- Avaliar a seletividade de inseticidas, registrados para a cultura da soja, ao parasitoide *T. diatraeae*.

## HIPÓTESE (S)

1. O parasitoide *T. diatraeae* parasita e se desenvolve em pupas de *C. includens*.
2. O período de contato de fêmeas de *T. diatraeae* com pupas de *C. includens* afeta o desenvolvimento desse parasitoide.
3. A idade da pupa de *C. includens* afeta o parasitismo e desenvolvimento de *T. diatraeae*.
4. Pupas de *C. includens* podem ser armazenadas a  $7,86 \pm 2$  °C e oferecidas ao parasitismo por *T. diatraeae* sem afetar as características biológicas desse parasitóide.
5. Os inseticidas acefato, azadiractina, *Bacillus thuringiensis* (Bt), deltametrina, lufenuron, teflubenzurom e tiametoxam + lambda-cialotrina, registrados para a cultura da soja, são seletivos ao parasitoide *T. diatraeae*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAHRY, C. A., Venske, E., Nardino, M., Fin, S. S., Zimmer, P. D., Souza, V. Q., Caron, B. O. Características morfológicas e componentes de rendimento da soja submetida à adubação nitrogenada. **Agrarian**, v.6, n. 21, p. 281–288, 2013.
- BARBOSA, M. S.; Guerra, M. S.; Pereira, F. F.; Silva, O. H. M.; Silva, I. F. Parasitism of *Tetrastichus howardi* (Ollif, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) on *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae) pupae at different ages. **Pesquisa Agropecuaria Tropical**, v. 52, e72978. 2022.
- BOTELHO, A. B. R. Z.; Silva, I. F.; Ávila, C. J.; Aspectos biológicos da lagarta-falsa-medideira e sua criação em laboratório com dieta artificial. **Circular Técnica. Embrapa Agropecuária Oeste**. Dourados, 2019. 24 p.
- BUENO, A. F.; Parra, J. R. P.; Colombo, F. C.; Colmenarez, Y. C.; Narde, B. V. F.; Pereira, F. F. Manejo de pragas com parasitoides. Em: MEYER, M. C.; Bueno, A. F.; Mazaro, S. M.; Silva, J. C. Bioinsumos na cultura da soja; **EMBRAPA**. Brasília, p. 417- 434, 2022.
- CAMPOS, E. F., **Seletividade de inseticidas sobre parasitoide de ovos *Telenomus podisi* Ashmead, 1893 (Hymenoptera: Platygasteridae)**. Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, da Universidade da Grande Dourados – UFGD. Dourados, 2019.
- CARVALHO, G. A.; Reis, P. R.; Grützmacher, A. D.; Degrande, P. E.; Yamato, P. T.; Bueno, A. F. Seletividade de produtos fitossanitários: uma estratégia viável para a agricultura sustentável. In PARRA, J. R. P., Pinto, A. S., Nava, D. E., Oliveira, R. C. Diniz, A. J. F. Controle biológico com parasitoides e predadores na agricultura brasileira. **FEALQ**, Piracicaba, 2021. 592 p.
- CHERIAN, M.C.; Margabandhu, V. A new species of *Trichospilus* (Hymenoptera: Chalcidoidea) from south India. **Indian Journal of Entomology**, v.4, p.101-102, 1942.
- CONAB Companhia Nacional de Abastecimento. **Boletim de Acompanhamento da safra de grãos, Safra 2021/22**. Brasília, 2022. 94 p.
- FAVERO, K.; Pereira, F. F.; Oliveira, H. N.; Zanuncio, J. C. *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) as an alternative host for the parasitoid *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae). **Revista Colombiana de Entomología**, v. 39, n. 01, p.47-48, 2013.
- FERNANDES, F. L.; Bacci, L.; Fernandes, M. S. Impact and selectivity of insecticides to predators and parasitoids. **EntomoBrasilis**, v.03, n.1, p. 1-10, 2010.
- FERNANDES, W, C. **Desempenho biológico de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em lagartas, pupas e pré-pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae) em condições de laboratório e semi-campo.**

2018. Tese, Programa de Pós-graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade -UFGD, Dourados, 2018.

GAZZONI, D. L. A soja é movida por inovações tecnológicas. **Ciencia e cultura**, v. 70, n.4, 2018.

GOATER, B.; Ronkay, L.; Fibiger, M. Noctuidae Europeae. **Entomological Press**, v.10, n. 1, 452 p., 2003.

LUCCHETTA, J. T.; Pereira, F. F.; Cardoso, C. R. G.; Wilcken, C. F.; Santos, F. A.; Palombo, I. L.; Santos, J. P.; Ramos, L. F. N.; Simoneli, B. C.; Tavares, M. T. First record in Brazil of *Brachymeria annulata* (Fabricius) (Hymenoptera: Chalcididae) and *Trichospilus diatraeae* Cherian and Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) parasitising pupae of *Iridopsis panopla* Prout (Lepidoptera: Geometridae) in eucalyptus (Myrtaceae). **The Canadian Entomologist**, v. 154, n. 23, p. 1-8, 2022.

MIRANDA, G. A. S.; **Padronização de metodologia para avaliar a seletividade de pesticidas sobre parasitóides de ovos**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, da Universidade da Grande Dourados – UFGD. 2010.

NHM, **Natural History Museu Universal** Chalcidoidea database, Taxon registration, 2020.

OLIVEIRA, F.A.L.D.; Silva, R. O.; Oliveira, N. R. X. D.; Andrade, G. S.; Pereira, F.F.; Zanuncio, J. C.; Coutinho, C. R.; Pastori, P. L. Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) with different densities and parasitism periods in *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) Pupae. **Folia Biologica**. v. 66, n. 03, 103- 110, 2018.

PEREIRA, F. F.; Pastori, P. L.; Kassab, S. O.; Torres, J. B.; Cardoso, C. R. G.; Fernandes, W. C.; Oliveira, H. N.; Zanuncio, J. C. Uso de eulofídeos no controle biológicos de pragas. Em: Parra, J. R. P.; Pinto, A. S.; Nava, D. E.; Oliveira, R. C.; Diniz, A. F. F. Controle biológico com parasitoides e predadores na agricultura brasileira; **FEALQ**. Piracicaba, p. 317-361, 2021.

PANIZZI, A. R.; Parra, J. R. P.; Introdução à bioecologia e nutrição de insetos como base para o manejo integrado de pragas. In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas. Embrapa Informação Tecnológica; **Embrapa Soja**. Londrina p. 21-35, 2009.

PARON, M. R. **Bioecologia de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) endoparasitoide de Lepidoptera**. Tese apresentada a Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, da Universidade Estadual de São Paulo – ESALQ- USP. Piracicaba, 1999.

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

PARRA, J. R. P., Pinto, A. S., Nava, D. E., Oliveira, R. C. Diniz, A. J. F. Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores. **Manole**, São Paulo, 2002. 626 p.

PARRA, J. R. P., Pinto, A. S., Nava, D. E., Oliveira, R. C. Diniz, A. J. F. Controle biológico com parasitoides e predadores na agricultura brasileira. **FEALQ**, Piracicaba, 2021. 592 p.

PARRA, J. R.P.; 2014. Biological Control in Brazil: An overview. **Scientia Agricola**, v.71, n.5 p.345-355, 2014.

PINHEIRO, H. S. S.; Poderoso, J. C. M.; Santos, Í. T. B. F.; Santos, V. B.; Santana, L. K. N.; Santos, T., S.; Silva, S., S.; Ribeiro, G. T.; Efeito subletal de inseticida sobre o inimigo natural *Podisus nigrispinus*. **Revista Craibeiras de Agroecologia**, v.3, n.1 2018.

PRATISSOLI, D.; Vianna, U. R.; Oliveira, H. N.; Pereira, F. F.; Efeito do armazenamento de ovos de *Anagasta kuehniella* (Lep.: Pyralidae) nas características biológicas de três espécies de *Trichogramma* (Hym.: Trichogrammatidae). **Revista Ceres**, v. 50, n. 287, p. 95-105, 2003.

SANOMIA, W. Y.; Pereira, F. F.; Silva, I. F. Insecticide selectivity to *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) under extended laboratory conditions. **Pesquisa Agropecuaria Tropical**, v. 50, n. 01, p. 1-8, 2020.

STACKE, R. F.; Giacomelli, T. Bronzatto, E. S.; Halberstadt, S. A.; Garlet, Cinthia, G.; Muraro, Dionei, S.; Guedes, Jerson, V. C.; Bernardi, Oderlei; Susceptibility of Brazilian populations of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) to selected insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 112, p 1378-1387, 2019.

SPECHT, A.; Paula-Moraes, S. V.; Sosa-Gómez, D. R. Host plants of *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera, Noctuidae, Plusiinae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 59, p. 343-345, 2015.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; Corrêa-Ferreira, B. S.; Hoffmann-Campo, C. B.; Corso, I. C.; Oliveira, L. J.; Moscardi, F.; Panizzi, A. R.; Bueno, A. F.; Hirose, E.; Roggia, S. **Manual de identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja**. Embrapa Soja. Londrina, 2014. 100 p.

TIAGO, E. F. **Biologia comparada de *Tetrastichus howardi*, *Tricospilus diatraeae* e *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) em lagartas e pupas de *Plutella xylostella* Lepidoptera: Plutellidae)**. Tese apresentada a Universidade Federal da Grande Dourados, 2019.

VAN-LENTEREN, J. C., Bolckmans. K., Jürgen K., Ravensberg, W. J. Urbaneja A. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. **BioControl**, v. 63, p. 39-59, 2017.

VIEIRA, E. C. S.; Ávila C. J.; Vivan, L. M.; Silva, I. F.; Vieira M. C. S.; Silva, P. G.; Control of *Anticarsia gemmatalis* (Hübner: 1818) (Lepidoptera: Erebididae) and

*Chrysodeixis includens* (Walker: 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) through insecticides applied to soybean seeds. **Journal of Agricultural Science**, v. 11, n. 18, 2019.

ZULIN, D.; Ávila, C. J.; Schlick-Souza, E. C. Population fluctuation and vertical distribution of the soybean looper (*Chrysodeixis includens*) in soybean culture. **American Journal of Plant Sciences**, v. 9, n. 7, p. 1544–1556. 2018.

## CAPÍTULO I

### REPRODUÇÃO DE *Trichospilus diatraeae* EM PUPAS DE *Chrysodeixis includens* COM DIFERENTES PERÍODOS DE PARASITISMO

#### RESUMO

O número e qualidade de parasitoides produzidos depende de se conhecer o período de parasitismo por hospedeiro. A expressão do potencial reprodutivo de um parasitóide varia com o período de contato com a pupa hospedeira. *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide polífago de lepidópteros pragas. *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) causa prejuízos expressivos em culturas como de soja, algodão, feijão, couve e girassol. O objetivo foi avaliar as características biológicas de *T. diatraeae* em pupas de *C. includens* e determinar o melhor período de parasitismo para a multiplicação desse parasitoide. Pupas de *C. includens* com 24 horas de idade foram individualizadas em tubos de vidro (8,0cm X 2,0 cm) e expostas ao parasitismo, durante 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas, por uma fêmea acasalada de *T. diatraeae* com 48 horas de idade. O parasitismo (%) e a emergência (%) desse parasitóide foram maiores que 50% em todos os tratamentos, com média geral  $88,67 \pm 1,43$  e  $69,12 \pm 6,40$  respectivamente. A duração do ciclo de vida (ovo a adulto), a progênie total e razão sexual foram semelhantes com  $21,35 \pm 0,23$ ,  $123,40 \pm 6,46$  e  $0,9727 \pm 0,00$ , respectivamente, entre tratamentos. A faixa de parasitismo de 24 a 144 h é adequada para a multiplicação de *T. diatraeae* em pupas de *C. includens*.

**Palavras-chave:** controle biológico, lagarta da soja, parasitóide..

**CHAPTER I**  
**REPRODUCTION OF *Trichospilus diatraeae* IN PUPAE OF *Chrysodeixis***  
***inclusens* WITH DIFFERENT PERIODS OF PARASITISM**

**ABSTRACT**

The number and quality of parasitoids produced depend on knowing the period of parasitism per host. The expression of the reproductive potential of a parasitoid varies with the period of contact with the host pupa. *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) is a polyphagous endoparasitoid of Lepidoptera pests. *Chrysodeixis inclusens* (Lepidoptera: Noctuidae) causes significant damage to crops such as soybean, cotton, bean, cabbage and sunflower. The objective was to evaluate the biological characteristics of *T. diatraeae* in pupae of *C. inclusens* and to determine the best period of parasitism for the multiplication of this parasitoid. Pupae of *C. inclusens* aged 24 hours were individualized in glass tubes (8.0cm X 2.0 cm) and exposed to parasitism, during 24, 48, 72, 96, 120 and 144 hours, by a mated female of *T. diatraeae* at 48 hours of age. Parasitism (%) and emergence (%) of this parasitoid were greater than 50% in all treatments, with overall averages of  $88.67 \pm 1.43$  and  $69.12 \pm 6.40$  respectively. Life cycle length (egg to adult), total progeny and sex ratio were similar with  $21.35 \pm 0.23$ ,  $123.40 \pm 6.46$  and  $0.9727 \pm 0.00$ , respectively, between treatments. The parasitism range of 24 to 144 h is adequate for the multiplication of *T. diatraeae* in *C. inclusens* pupae.

**Keywords:** soybean caterpillar, parasitoid, biological control.



## 1. INTRODUÇÃO

O controle biológico é uma ferramenta para o manejo de insetos pragas. A coleta, identificação e criação no laboratório de inimigos naturais são etapas importantes para o desenvolvimento do controle biológico. A seleção de parasitoides, para o controle de determinado inseto-praga, é baseada em características morfológicas, fisiológicas e comportamentais dos mesmos (PARRA et al., 2021).

*Chrysodeixis includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae), conhecida popularmente como falsa medeadeira devido a sua locomoção em "mede palmo", pode causar prejuízos expressivos em culturas como de soja (*Glycine max*), algodão (*Gossypium hirsutum* L.), feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), couve (*Brassica oleracea* L.) e girassol (*Helianthus annuus* L.) (MACHADO et al., 2022). O controle químico é o principal método utilizado no manejo de *C. includens*, mas indivíduos resistentes, dessa praga, a inseticidas como lambda-cialotrina, metoxifenoazida, teflubenzuron foram relatados (STACKE et al., 2019). O hábito das lagartas de *C. includens* permanecerem, principalmente, na parte inferior das plantas de soja, onde o inseticida não consegue penetrar devido a área foliar da planta, reduz a eficiência dos inseticidas (ZULIN et al., 2018).

O endoparasitoide *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) é polífago e relatado em lepidópteros de importância agrícola e florestal (FAVERO et al., 2014) como *Iridopsis panopla* Prout, 1932 (Lepidoptera: Geometridae) (LUCCHETTA et al., 2022), *Thyriniteina arnobia* (STOLL, 1782) (PEREIRA et al., 2008), pragas importantes do eucalipto e *Diatraea saccharalis* (FABRICIUS 1794) (Lepidoptera: Crambidae), *Helicoverpa armigera* (HÜEBNER, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae), *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae), *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), (PARON e BERTI-FILHO, 2000), insetos pragas importantes na cultura da soja.

O sucesso de programa de controle biológico depende da multiplicação em larga escala de parasitoides, predadores e de suas presas e/ou hospedeiros e do conhecimento de suas interações biológicas (PARRA et al., 2021). A criação massal de inimigos naturais depende de se conhecer aspectos biológicos, como maturidade e razão

sexual, longevidade, tipo de reprodução, duração do ciclo de vida (ovo-adulto), discriminação hospedeira, especificidade, parasitismo, além de interações com fatores abióticos como temperatura, luz e umidade (PEREIRA et al., 2008; FAVERO et al., 2014)

O período de parasitismo por hospedeiro é importante para se obter o maior número com qualidade de indivíduos produzidos. Um período inadequado de contato entre parasitoides e pupas hospedeiras pode reduzir o parasitismo impedindo esses parasitoides de atingirem seu potencial reprodutivo. A biologia reprodutiva de parasitoides com métodos adequados deve ser estudada para aprimorar técnicas de multiplicação com menores custos de produção de inimigos naturais (FAVERO et al., 2014; COSTA et al., 2014; ADAMO, 2022).

O objetivo foi avaliar, diferentes períodos de contato com pupas de *C. includens* as características biológicas de *T. diatraeae*, visando sua multiplicação.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Localização do experimento

Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) (22° 11'56,56'' S, 54° 56' 1,396'' W), da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA) da Universidade Federal da Grande Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

### 2.2 Criação do hospedeiro para condução dos experimentos

Pupas de *C. includens* foram obtidas da criação estoque do LECOBIOL e sexadas e acondicionadas em gaiolas PVC com um frasco de 50ml de solução de água e mel a 10% tampado e com um furo no centro onde um pedaço de algodão foi colocado para os adultos se alimentarem. Folhas de papel sulfite cor rosa foram dispostas cobrindo toda a área interna do cano de PVC para a oviposição de *C. includens*. As folhas com postura foram retiradas da gaiola dos adultos e colocadas com dieta artificial (GREENE et al., 1976) em recipientes de 30cm de comprimento por 20 cm de largura e 10cm de altura. Após a completa eclosão das larvas (cerca de tres dias), as folhas de papel A4 foram retiradas dos recipientes para não atrapalharem as lagartas recém-eclodidas de chegarem até a dieta, eviatando a morte das mesmas por inanição (MORANDO, 2014).

A dieta (Anexo 4) foi trocada sempre que tivesse indícios de perda de umidade quando as lagartas foram passadas da dieta velha (seca e escura) para a nova com auxílio de um pincel de cerdas macias, pois muitas delas não passavam voluntariamente e acabavam morrendo. O cuidado durante o manuseio nos primeiros ínstares é crucial, pois as lagartas são muito frágeis (MORANDO, 2014)

A fase pupal de *C. includens* é de dez dias laboratório. As pupas foram sexadas e separadas para a criação desse hospedeiro e/ou para a manutenção da criação dos parasitoides. Trezenta pupas foram colocadas em duas placas de acrílico dentro da

gaiola de PVC para emergência dos adultos de *C. includens* (MORANDO, 2014; BARBOSA, 2022).

As gaiolas foram posicionadas sob iluminação artificial para estimular a cópula e a oviposição de *C. includens*. A iluminação foi por duas lâmpadas fluorescentes paralelamente (MAXXI® F 18W T8 Rosa do tipo Gro-lux e SYLVANIA® F 20W T10 5000K Luz do dia Plus) ligadas por timer com fotoperíodo de 14 horas de luz (MORANDO, 2014; BARBOSA, 2022).

### **2.3. Criação de *Trichospilus diatraeae* para o experimento**

Adultos de *T. diatraeae*, obtidos da criação estoque do laboratório, foram mantidos em tubos de ensaio (8,5×1 cm) tampados com algodão e com uma gotícula de mel puro (alimento). Pupas de *T. molitor* (24 horas de idade) e de *D. saccharalis* (24 a 72 horas de idade) foram expostas ao parasitismo por cinco fêmeas de *T. diatraeae* com 48 a 72 horas de idade (protocolo de criação estabelecido no Lecobiol), à  $25 \pm 1$  °C, umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas até a emergência da progênie para a manutenção da criação desse parasitoide (PEREIRA et al., 2008).

### **2.4. Desenvolvimento experimental**

Pupas de *C. includens* com 24 horas de idade foram individualizadas em tubos de vidro (8,0cm X 2,0 cm) e expostas ao parasitismo por uma fêmea de *T. diatraeae* com 48 horas de idade e, previamente, acasalada (Anexos 1 e 2), por 24, 48, 72, 96, 120 ou 144 horas. Uma gotícula de mel foi colocada por tubo de vidro. O experimento foi realizado em sala climatizada a  $25 \pm 2$ ° C,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 horas. Após o período de parasitismo, os parasitoides foram retirados dos tubos, permanecendo somente as pupas no seu interior. O mesmo procedimento foi realizado, sem a presença dos parasitoides para se calcular a mortalidade natural do hospedeiro (ABBOTT, 1925).

As características biológicas avaliadas dos parasitoides foram: porcentagem de parasitismo (%P) [(número de pupas de *C. includens* com emergência de parasitoides

+ pupas sem emergência de adultos de *C. includens* / (número total de pupas)  $\times$  100]; porcentagem de emergência (%E) [(número de pupas de *C. includens* com emergência de adultos do parasitoide)/(número de pupas parasitadas)  $\times$  100]; duração do ciclo de vida (tempo de desenvolvimento do parasitoide imaturo a partir do dia do parasitismo até a emergência do adulto); progênie total (número de parasitoides emergidos por hospedeiro parasitado); razão sexual (número de fêmeas/número total de adultos emergidos) e longevidade média. A longevidade média de machos e de fêmeas foi avaliada em 10 fêmeas e 10 machos de *T. diatraeae*, por tratamento e selecionados ao acaso no dia da emergência, individualizados em micro tubos (eppendorfs) vedados com algodão com uma gotícula de mel puro, onde foram observados, diariamente, até sua morte. (PEREIRA et al., 2021). O sexo de *T. diatraeae* foi identificado de acordo com as características morfológicas da antena e abdome de seus machos e (PARON, 1999).

## 2.5. Análise estatística

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado com sete tratamentos (períodos de parasitismo) e dez repetições, tendo cada uma um grupo de cinco pupas de *C. includens* individualizadas, totalizando 50 pupas por tratamento e 350 pupas em todo o experimento. Os dados das características biológicas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e de regressão.

### 3. RESULTADOS

As porcentagens de parasitismo e emergência de *T. diatraeae* foram maiores que 50% em todos os tratamentos com média geral de  $88,67 \pm 1,43$  e  $69,12 \pm 6,40$  respectivamente (Quadro 1).

A duração do ciclo de vida (ovo adulto), progênie total e razão sexual de *T. diatraeae* foram semelhantes com média geral de  $21,35 \pm 0,23$ ,  $123,4 \pm 6,46$  e  $0,97 \pm 0,00$  respectivamente (Quadro 1).

A longevidade de fêmeas e machos de *T. diatraeae* foram semelhantes entre tratamentos, com média geral de  $10,25 \pm 0,71$  e  $7,78 \pm 0,75$  respectivamente (Quadro 2).

#### 4. DISCUSSÃO

O tempo de contato do parasitoide com o hospedeiro não afetou o parasitismo e a emergência de *T. diatraeae*. O parasitismo de *T. diatraeae* em pupas de *C. includens* não variou com o número de dias de contato do parasitoide com a pupa. Isto difere do parasitismo de pupas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) por *T. diatraeae* ter variado com o aumento dos dias de contato do parasitoide com a pupa, com aumento na porcentagem de parasitismo (OLIVEIRA et al., 2018). O parasitismo de pupas de *Scirpophaga excerptalis* Walker, 1863 (Lepidoptera: Crambidae) por *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) diminuiu com o aumento do tempo de contato entre a pupa e o parasitoide, atribuído ao superparasitismo causando a morte das pupas hospedeiras (KUMAR et al., 2016). A porcentagem semelhante de emergência nos diferentes períodos de parasitismo foi semelhante ao relatado para *T. diatraeae* parasitando pupas de *A. gemmatalis* (OLIVEIRA et al., 2018).

A duração do ciclo de vida (ovo-adulto), progênie e razão sexual semelhantes nos diferentes períodos de parasitismo demonstrando que o tempo de contato do parasitoide com a pupa não afeta estes parâmetros (COSTA et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2018). Os resultados, para esses parâmetros, foram semelhantes aos relatados para *T. diatraeae* parasitando *D. saccharalis* (VARGAS et al., 2014) e *T. arnobia* (PASTORI et al., 2012). Esses resultados semelhantes aos relatados para um hospedeiro que foi encontrado naturalmente *T. diatraeae* (pupas de *D. saccharalis*) é importante, reforçando a qualidade de *C. includens* para esse parasitoide.

A longevidade de fêmeas e de machos semelhantes com os diferentes períodos de parasitismo demonstra que o tempo de contato do parasitoide com a pupa não afeta este parâmetro. Uma maior longevidade favorece o parasitoide aumentar a oportunidade de encontrar indivíduos do sexo oposto para o acasalamento e tempo de busca por hospedeiro em campo (FOERSTER et al., 2001; COSTA et al., 2014).

A falta de efeito nas características biológicas analisadas, pelos diferentes períodos de contato entre os parasitoides e o hospedeiro é importante para a criação massal. Isto significa que o aumento do período de contato não causou a morte do hospedeiro ou afetou as características biológicas e reprodutiva de *T. diatraeae* em

pupas de *C. includens*. Pupas de *C. includens* são ótimas hospedeiras alternativas para a criação de *T. diatraeae* em laboratório.



## 5. CONCLUSÃO

A faixa de parasitismo entre 24 a 144 h é adequada para a multiplicação de *T. diatraeae* em pupas de *C. includens*.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticida. **Journal Economy Entomology**, v. 18, n. 2, p. 265-267, 1925.

ADAMO, S. A. Dividing up the bill: Interactions between how parasitoids manipulate host behaviour and who pays the cost. **Functional Ecology**. v.00, p. 1-8, 2022. DOI: 10.1111/1365-2435.14150

BARBOSA, M. S. **Seletividade de inseticidas a *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) e seu parasitismo em pupa de *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae)**. Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), 2022.

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 parasitism on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) caterpillars. **Annals of the Entomological Society of America**, v.107, n. 05, p: 961-966, 2014

FAVERO, K.; Pereira, F. F.; Kassab, S. O.; Costa, D. P.; Zanuncio, J. C. Life and Fertility Tables of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) with *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) pupae. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 107, n. 03, p. 621-626, 2014.

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.

GREENE, G. L.; Leppla, N. C.; Dickerson, W. A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology**, v. 69, n. 04, p. 487-488, 1976.

KUMAR, A.; Baitha, A.; Bareliya, P. K. Some biological aspects of pupal parasitoid, *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) on *Chilo auricilius* (Dudgeon) pupae. **Current Biotica**, v. 10, n. 02, p: 170-174, 2016.

LUCCHETTA, J. T.; Pereira, F. F.; Cardoso, C. R. G.; Wilcken, C. F.; Santos, F. A.; Palombo, I. L.; Santos, J. P.; Ramos, L. F. N.; Simoneli, B. C.; Tavares, M. T. First record in Brazil of *Brachymeria annulata* (Fabricius) (Hymenoptera: Chalcididae) and *Trichospilus diatraeae* Cherian and Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) parasitising pupae of *Iridopsis panopla* Prout (Lepidoptera: Geometridae) in eucalyptus (Myrtaceae). **The Canadian Entomologist**. v. 154, n. 23, p. 1-8, 2022.

MACHADO, E. P., Garlet, C. G., Weschenfelder, M. AG., Führ, F. M., Godoy, D. N., Pretto, V. E., Contini, R. E., Franco, C. R., Omoto, C., Benardi, O. Interspecific

variation in susceptibility to insecticides by Lepidopteran pests of soybean, cotton, and maize crops from Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 115, n. 01, p. 305–312, 2022.

MORANDO, R. **Resistência de genótipos de feijoeiro a *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: noctuidae)**. Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Ciências Agrônomicas-UNESP, 2014.

OLIVEIRA, F. A. L. D.; Silva, R. O.; Oliveira, N. R. X. D.; Andrade, G. S.; Pereira, F. F.; Zanuncio, J. C.; Coutinho, C. R.; Pastori, P. L. Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) with different densities and parasitism periods in *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) pupae. **Folia Biologica (Kraków)**, v. 66, n. 03, p:103-110, 2018.

PARRA, J. R. P., Pinto, A. S., Nava, D. E., Oliveira, R. C. Diniz, A. J. F. Controle biológico com parasitoides e predadores na agricultura brasileira. **FEALQ**, Piracicaba, 2021. 592 p.

PARON, M. R.; Berti-Filho, E.; Capacidade reprodutiva de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de diferentes hospedeiros (Lepidoptera). **Scientia Agricola**, n 57, p. 355-358, 2000.

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, n. 01, p: 91-93, 2012.

PEREIRA, F. F.; Zanuncio, J. C.; Tavares, M. T.; Pastori, P. L.; Jacques, G. C. New Record of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) as a parasitoid of the eucalypt defoliator *Thyrinteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) in Brazil. **Phytoparasitica**, v. 36, p. 304–306, 2008.

PEREIRA, F. F.; Pastori, P. L.; Kassab, S. O.; Torres, J. B.; Cardoso, C. R. G.; Fernandes, W. C.; Oliveira, H. N.; Zanuncio, J. C. Uso de eulofídeos no controle biológicos de pragas. Em: Parra, J. R. P.; Pinto, A. S.; Nava, D. E.; Oliveira, R. C.; Diniz, A. F. F. Controle biológico com parasitoides e predadores na agricultura brasileira; **FEALQ**. Piracicaba, p. 317-361, 2021.

STACKE, R. F.; Giacomelli, T. Bronzatto, E. S.; Halberstadt, S. A.; Garlet, Cinthia, G.; Muraro, Dionei, S.; Guedes, Jerson, V. C.; Bernardi, Oderlei; Susceptibility of Brazilian populations of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) to selected insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 112, p 1378-1387, 2019.

VARGAS, E. L; Pereira, F. F.; Calado, V. R. F.; Glaeser, D. F.; Rodrigues, B. A. C.; Silva, N. V. Densidade de fêmeas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **SITIENTIBUS série Ciências Biológicas**, v. 13, 2013. DOI: 10.13102/scb227.

ZULIN, D.; Ávila, C. J.; Schlick-Souza, E. C. Population fluctuation and vertical distribution of the soybean looper (*Chrysodeixis includens*) in soybean culture. **American Journal of Plant Sciences**, v. 9, n. 7, p. 1544–1556, Jan. 2018.

**Quadro 1:** Parasitismo (Par.), emergência (Em.), ciclo de vida (ovo – adulto), progênie total e razão sexual de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) com períodos (Per.) de parasitismo de 24 a 144 horas em pupas de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 h.

Per.	Par. (%)	Em. (%)	Ciclo (dias)	Progênie total	Razão Sexual
24	86±5,21	68,5±6,94	21,25±0,25	139,77±7,02	0,98±0,00
48	86±3,06	61,5±6,79	21,07±0,07	131,04±6,85	0,97±0,01
72	94±3,06	58,5±6,58	20,92±0,26	114,23±4,19	0,97±0,00
96	88±6,11	85,5±6,77	22,48±0,17	97,47±4,38	0,96±0,00
120	92±4,42	90,2±4,15	21,07±0,14	121,65±5,42	0,96±0,01
144	86±5,21	50,5±6,83	21,28±0,16	136,25±11,14	0,96±0,01
MG	88,67± 1,43	69,12±6,4	21,35±0,23	123,40±6,46	0,97±0,00
C.V. (%)	3,95	22,70	2,68	12,82	0,62

ns – Não significativo pela análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de probabilidade. MG= média geral. C.V. – Coeficiente de variação.

**Quadro 2:** Longevidade de machos e fêmeas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) com diferentes períodos de parasitismo de 24 a 144 horas em pupas de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae), a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 h.

Periodos	Fêmea (dias)	Machos (dias)
24	5,50±0,25	5,0±0,00
48	8,20±0,69	5,40±0,83
72	9,40±0,66	6,80±0,61
96	15,35±0,90	12,50±1,12
120	11,55±0,89	11,50±1,42
144	11,50±0,84	5,50±0,50
Média geral	10,25±0,71	7,78±0,75

ns – Não significativo pela análise de variância (ANOVA) em nível de 5% de probabilidade.

## CAPÍTULO II

### REPRODUÇÃO DE *Trichospilus diatraeae* EM PUPAS DE *Chrysodeixis includens* DE DIFERENTES IDADES

#### RESUMO

O endoparasitoide de pupas *Trichospilus diatraeae* é generalista tornando este inimigo natural um agente promissor de controle biológico de diferentes lepidópteros-praga, incluindo *Chrysodeixis includens*, praga na cultura da soja. Fatores abióticos (temperatura, iluminação, umidade) e bióticos (hospedeiro, inseto predador/parasitoide) e suas interações biológicas afetam a criação massal de inimigos naturais e, conseqüentemente, o sucesso de programas de controle biológico. O objetivo deste trabalho foi avaliar o parasitismo e o desenvolvimento de *T. diatraeae* em pupas de *C. includens* com diferentes idades. Essas pupas, com 24, 48, 72, 96, 120, 144 ou 168 horas de idade, foram expostas ao parasitismo de fêmeas adultas de *T. diatraeae* com 48 horas de idade (alimentadas e acasaladas) na densidade de 5:1 parasitoide/hospedeiro. Cada relação (hospedeiro-parasitoide) foi acondicionada em tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro e 8,5 cm de altura) tampados com algodão. As pupas de *C. includens* foram expostas ao parasitismo por 72 horas e, após este período, as fêmeas do parasitoide foram eliminadas e as pupas hospedeiras mantidas em tubos de vidro em sala climatizada a temperatura de  $25\text{ °C} \pm 1$ , umidade relativa de  $70\% \pm 10$ , e fotofase de 14 horas, até a emergência dos adultos desse parasitoide. Fêmeas de *T. diatraeae* parasitaram e se devolveram em pupas de *C. includens* de todas as idades avaliadas, mas aquelas com 24 a 72 horas de idade são mais adequadas para multiplicar esse parasitoide.

**Palavras-chave:** Falsa-medideira; controle biológico; Eulophidae.

**CHAPTER II**  
**REPRODUCTION OF *Trichospilus diatraeae* IN PUPAE OF *Chrysodeixis***  
***inclusens* OF DIFFERENT AGES**

**ABSTRACT**

The pupae endoparasitoid *Trichospilus diatraeae* is a generalist, making this natural enemy a promising biological control agent for different lepidopteran pests, including *Chrysodeixis inclusens*, a soybean pest. Abiotic (temperature, lighting, humidity) and biotic (host, predatory insect/parasitoid) factors and their biological interactions affect the mass rearing of natural enemies and, consequently, the success of biological control programs. The objective of this work was to evaluate the parasitism and development of *T. diatraeae* in pupae of *C. inclusens* at different ages. These pupae, aged 24, 48, 72, 96, 120, 144 or 168 hours, were exposed to the parasitism of adult female *T. diatraeae* aged 48 hours (fed and mated) at a density of 5:1 parasitoid/ host. Each relationship (host-parasitoid) was placed in glass tubes (2.5 cm in diameter and 8.5 cm in height) covered with cotton. *C. inclusens* pupae were exposed to parasitism for 72 hours and, after this period, the parasitoid females were eliminated and the host pupae were kept in glass tubes in a climate-controlled room at a temperature of 25 °C ± 1, relative humidity of 70% ± 10, and a 14-hour photophase, until the emergence of adults of this parasitoid. Females of *T. diatraeae* parasitized and returned in pupae of *C. inclusens* of all evaluated ages, but those with 24 to 72 hours of age are more suitable for multiplying this parasitoid.

**Keywords:** False-measure, biological control, Eulophidae.



## 1. INTRODUÇÃO

O endoparasitoide de pupas, *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), foi descrito em 1942 parasitando pupas de *Diatraea venosata* (Walker, 1863) (Lepidoptera: Crambidae) (CHERIAN & MARGABANDHU, 1942) e no Brasil relatado em pupas de Arctiidae (PARON & BERTI-FILHO, 2000). O hábito generalista de *T. diatraeae* aumenta a importância desse parasitoide para o controle biológico (SILVA et al., 2015). *Trichospilus diatraeae* pode ser utilizado no controle biológico de insetos pragas como *Iridopsis panopla* Prout, 1932 (Lepidoptera: Geometridae) (LUCCHETTA, et al., 2022), *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), *Helicoverpa armigera* (HÜEBNER, 1808)(Lep.: Noctuidae), *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae), *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) (PARON & BERTI-FILHO, 2000) *Thyrinteina arnobia* (Stoll, 1782) (PEREIRA et al., 2008).

O êxito de programas de controle biológico depende da produção massal de parasitoides em larga escala (LI et al., 2019). Hospedeiros alternativos, como *Tenebrio molitor* L. 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae) (FAVERO et al., 2014) e *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1805) (Lepidoptera: Noctuidae) (OLIVEIRA et al., 2016) são utilizados na multiplicação de *T. diatraeae*.

O sucesso de programas de controle biológico depende da criação massal de inimigos naturais que pode ser afetada por fatores abióticos (temperatura, iluminação, umidade) e bióticos (hospedeiro, inseto predador/parasitoide) e suas interações biológicas (PARRA, 2021).

Parasitoides se desenvolvem em insetos hospedeiros, cuja qualidade nutricional pode afetar os parâmetros biológicos de parasitoides (HARVEY & STRAND, 2002). Além disso, a qualidade do hospedeiro pode variar com fatores como tamanho, espécie e o estágio que ela se encontra (TANG et al., 2015). Parasitoides fêmeas distinguem a qualidade do hospedeiro por estímulos físicos (tato, visão, olfato e gustação) e bioquímicos (compostos químicos liberados pelo hospedeiro e hormônios) e, no momento da inserção do ovipositor no parasitismo, se a qualidade do hospedeiro for satisfatória, fará a oviposição (GODFRAY, 1994; NOFEMELA & KFIR, 2008).

O parasitoide prefere pupas de maior qualidade quando recebe pupas da mesma espécie com várias idades, (WANG & LIU, 2002). A qualidade do hospedeiro varia com a idade da pupa, com menos recursos nutricionais naquelas mais velhas (TANG et al., 2015).

Lepidópteros podem ser criados em grandes números e suas pupas utilizadas para a criação de parasitoides, mas suas diferentes idades para maximizar a produção são pouco estudadas (COSTA et al., 2014). O desenvolvimento de cada parasitoide pupal é melhor em pupas com um intervalo específico de idade, com este parâmetro afetando a progênie e outras características biológicas desses inimigos naturais (BARBOSA et al., 2022).

*Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae), considerada praga secundária com reduzida importância econômica, se tornou em 2000 praga chave (BUENO et al., 2017) e, com *A. gemmatalis* são os principais lepidópteros pragas na cultura da soja (HORIKOSHI et al., 2021). Lagartas desfolhadoras reduzem a produtividade por diminuírem a área fotossintética da planta (BOFF et al., 2022).

O controle de *C. includens* é feito, principalmente, com inseticidas químicos, mas a resistência a alguns desses produtos tem sido relatada (CONTINI et al., 2022). Isto aumenta a importância de técnicas alternativas de controle, como a utilização de inimigos naturais (PEREIRA et al., 2018).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o parasitismo e o desenvolvimento de *T. diatraeae* em pupas de *C. includens* com diferentes idades.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Localização do experimento

Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) (22° 11'56,56" S, 54° 56' 1,396" W) da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA) da Universidade Federal da Grande Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

### 2.2 Criação do hospedeiro para condução dos experimentos

Pupas de *C. includens* foram obtidas da criação estoque do LECOBIOL, sexadas e acondicionadas em gaiolas PVC com um frasco de 50ml de solução água e mel a 10% tampado com um furo no centro onde um chumaço de algodão foi colocado para os adultos se alimentarem. Folhas de papel sulfite cor rosa foram dispostas cobrindo toda a área interna do cano de PVC para a oviposição. As folhas com postura foram retiradas da gaiola dos adultos, cortadas em tiras longitudinais e colocadas com dieta artificial (GREENE et al., 1976) (Anexo 4) em recipientes de 30cm de comprimento por 20 cm de largura e 10cm de altura. Após a completa eclosão das lagartas (cerca de tres dias), as folhas de papel sulfite foram retiradas dos recipientes para evitar que atrapalhassem as lagartas recém-eclodidas chegarem à dieta e, assim, evitando a morte das mesmas por inanição (MORANDO, 2014).

A dieta foi trocada sempre que apresentasse indícios de perda de umidade, quando as lagartas da dieta velha (seca e escura) foram passadas para a nova com auxílio de um pincel de cerdas macias, pois muitas delas não passavam voluntariamente e acabavam morrendo. O cuidado durante o manuseio nos primeiros ínstaes é crucial, pois as lagartas são muito frágeis (MORANDO, 2014).

As lagartas, após o último ínstar, passam para fase de pupa as quais foram retiradas dos recipientes e acondicionadas em outros para evitar o canibalismo por lagartas de último instar, e se transformarem em pupas. A fase pupal durou em média dez dias em laboratório. As pupas foram sexadas e separadas para a criação e/ou para a manutenção da criação dos parasitoides. Trezentas pupas foram colocadas em duas

placas de acrílico dentro da gaiola de PVC para a emergência dos adultos (MORANDO, 2014; BARBOSA, 2022). Essas gaiolas foram, em seguida, posicionadas sobre iluminação artificial para estimular a cópula e a oviposição. A iluminação foi feita com duas lâmpadas fluorescentes dispostas paralelamente (MAXXI® F 18W T8 Rosa do tipo Gro-lux e SYLVANIA® F 20W T10 5000K Luz do dia Plus) ligadas por timer com fotoperíodo de 14 horas de luz (MORANDO, 2014; BARBOSA, 2022).

### 2.3 Criação dos parasitoides para o experimento

Adultos de *T. diatraeae*, obtidos da criação estoque do laboratório, foram mantidos em tubos de ensaio (8,5×1 cm) tampados com algodão com uma gotícula de mel puro (alimento para os insetos). A criação desse parasitoide foi mantida com pupas de *T. molitor* (24 horas de idade) e de *D. saccharalis* (24 a 72 horas de idade) expostas ao parasitismo por cinco fêmeas com 48 a 72 horas de idade (protocolo de criação estabelecido no LECOBIOL) à  $25 \pm 1$  °C, umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas até a emergência dos adultos (PEREIRA et al., 2008).

### 2.4 Desenvolvimento experimental

Pupas de *C. includens* com 24, 48, 72, 96, 120, 144, ou 168 horas de idade foram expostas ao parasitismo por fêmeas adultas de *T. diatraeae* com 48 horas de idade (acasaladas e alimentadas) na densidade de 5:1 parasitoide hospedeiro. Cada relação (parasitóide-hospedeiro) foi acondicionada em tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro e 8,5 cm de altura) e tampados com algodão. As pupas de *C. includens* foram expostas ao parasitismo por 72 horas [(determinado por testes preliminares) (porcentagem de parasitismo e emergência de descendentes)]; após este período as fêmeas do parasitoide foram eliminadas e as pupas hospedeiras individualizadas em tubos de vidro e mantidas em sala climatizada a temperatura de  $25 \text{ °C} \pm 1$ , umidade relativa de  $70\% \pm 10$ , e fotofase de 14 horas, para a emergência dos adultos desse parasitoide.

As características biológicas avaliadas: porcentagem de parasitismo (%P) [(número de pupas de *C. includens* com emergência de parasitoides + pupas sem emergência de adultos de *C. includens*)/ (número total de pupas) × 100]; porcentagem de emergência (%E) [(número de pupas de *C. includens* com emergência de adultos do parasitoide)/(número de pupas parasitadas) × 100]; duração do ciclo de vida (tempo de

desenvolvimento do parasitoide imaturo contado a partir do dia do parasitismo até a emergência do adulto); progênie total (número de parasitoides emergidos por hospedeiro parasitado); progênie por fêmea (progênie de fêmeas em função do número de fêmeas utilizada em casa densidade avaliada); e razão sexual (número de fêmeas/número de total de adultos emergidos) (PEREIRA et al.,2021).

## **2.5 Análises estatística**

O delineamento foi inteiramente casualizado com sete tratamentos representados pelas idades das pupas do hospedeiro *C. includens* com 10 repetições, cada uma constituída por cinco pupas de *C. includens*, totalizando 50 pupas e 250 fêmeas do parasitoide por tratamento. Os dados das características biológicas avaliadas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a 5% de probabilidade e os valores significativos à análise de regressão. O melhor ajuste da equação para os parâmetros avaliados foi baseado no modelo com todos os coeficientes significativos, ajustando-se melhor aos dados, com base no coeficiente de determinação ( $R^2$ ), na significância dos coeficientes de regressão ( $\beta_i$ ) e da regressão pelo teste F ( $p \leq 0,05$ ), além de se adequar ao fenômeno biológico estudado.

### 3. RESULTADOS

O parasitismo de pupas de *C. includens* por fêmeas de *T. diatraeae* variou com a idade diferindo entre tratamentos ( $P= 0,005$  e  $F= 63,8905$ ). O parasitismo de *T. diatraeae* diminuiu com o aumento da idade da pupa hospedeira, em pupas com 24 horas de idade,  $100 \pm 0,00\%$  seguido por aquelas com 48 e 72 horas, ambas com  $92 \pm 4,90\%$  e com menor valor nas com 144 e 168 horas,  $4 \pm 0,00\%$  e  $0,00\%$  respectivamente (Figura 1).

A emergência de *T. diatraeae* em pupas de *C. includens* variou com a idade das pupas e diferiu entre todos os tratamentos ( $P= 0,0076$  e  $F= 37,1869$ ), com maior emergência naquelas com 48 horas  $91 \pm 5,57\%$  e decréscimo com o aumento da idade da pupa até 144 horas, com  $20 \pm 22,36\%$ , a menor porcentagem por tratamento. Pupas com 168 horas não foram parasitadas e, por isso, não tiveram emergência do parasitoide (Figura 2)

A progênie, de fêmeas de *T. diatraeae* em pupas de *C. includens*, variou com a idade das pupas dessas últimas diferindo entre todos os tratamentos ( $P= 0,0260$  e  $F= 15,5993$ ), com maior valor de pupas com 48 horas,  $85,08 \pm 14,19$  indivíduos de cada uma e o menor naquelas de pupas com 144 horas,  $3,76 \pm 3,76$  indivíduos por pupa (Figura 3).

A duração do ciclo de vida e a razão sexual de *T. diatraeae* foram semelhantes entre tratamentos com média geral de  $21,34 \pm 0,12$  dias e  $0,9560 \pm 0,00$  respectivamente ( $P>0,05$ ) (Quadro 1).

A longevidade de fêmeas de *T. diatraeae*, emergidas de pupas de *C. includens* de diferentes idades, diferiu entre todos os tratamentos ( $P= 0,0155$  e  $F= 22,5967$ ), com maior e menor valores no tratamento com pupas de 72 horas,  $12,3 \pm 1,11$  dias, e no com pupas de 144 horas com  $6,9 \pm 1,12$  dias, respectivamente. Esse parâmetro não foi avaliado para pupas de 168 horas devido a falta de parasitismo nas mesmas.

A longevidade de machos de *T. diatraeae*, emergidos de pupas de *C. includens* com diferentes idades diferiu entre todos os tratamentos ( $P= 0,0493$  e  $F= 9,6637$ ). Esse parâmetro foi maior no tratamento com pupas de 72 horas,  $11,4 \pm 1,17$  dias e menor com pupas de 144 horas,  $4,6 \pm 0,60$  dias. A falta de parasitismo e emergência de *T. diatraeae* com pupas de 168 horas de idade impediu a avaliação da longevidade, desse parasitoide, neste tratamento.

#### 4. DISCUSSÃO

O potencial de *C. includens* como hospedeiro para a criação de *T. diatraeae* é alto e a utilização desse parasitoide no manejo dessa praga deve ser estudado.

O maior parasitismo em pupas de *C. includens* com 24, 48 e 72 horas demonstra uma preferência do parasitoide *T. diatraeae* por pupas hospedeiras mais jovens. Isto é semelhante ao relatado para o parasitoide *Tetrastichus howardi* (OLLIFF, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) parasitando *C. includens* (BARBOSA et al., 2022), mas difere dos parasitoides *Palmistichus elaeisis* (Delvare; LaSalle, 1993) (Hymenoptera: Eulophidae) parasitando pupas de *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) (PEREIRA, et al., 2009) e *T. howardi* parasitando pupas de *D. saccharalis* (COSTA, et al., 2014) sem a interferência da idade das mesmas nesse parâmetro. No entanto, o parasitismo de pupas de *Eoreuma loftini* (Dyar) (Lepidoptera: Crambidae) por *Pediobius furvus* (Gahan, 1928) (Hymenoptera: Eulophidae) foi maior naquelas com meia idade (PFANNENSTIEL et al., 1996). A qualidade nutricional dos hospedeiros para parasitoides está relacionada à espécie, tamanho e idade da pupa dos mesmos (HARVEY & STRAND, 2002). Parasitoides identificam, por estímulos físicos e químicos, a qualidade do hospedeiro durante a oviposição, preferindo pupas hospedeiras mais jovens com melhor nutrição para seus imaturos (WANG & LIU, 2002; HE et al. 2011; TANG et al., 2015). O reduzido parasitismo em pupas com 144 horas e o não parasitismo naquelas com 168 horas pode estar relacionada à qualidade do hospedeiro decrescente com o final do período pupal, e menos favorável para o desenvolvimento de parasitoides (PONCIO et al, 2018).

A maior emergência *T. diatraeae*, de pupas de *C. includens* com 48 horas seguidas daquelas com 24 horas mostra equilíbrio entre a suscetibilidade e idade do hospedeiro, garantindo uma maior eficiência de parasitismo (PONCIO et al., 2018). A maior emergência de pupas mais novas pode estar relacionada com a qualidade nutricional do hospedeiro diminuindo com o tempo devido a fatores morfológicos e fisiológicos das pupas (WANG & LIU, 2002). Isto é semelhante ao relatado para *T. diatraeae* parasitando pupas de *Diaphania hyalinata* L. (Lepidoptera: Crambidae), com maior emergência de pupas com 24 e 48 horas (SILVA et al., 2015) e de *P. elaeisis* parasitando pupas de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), com maior emergência (MARTINS et al., 2019).

A reduzida progênie de *T. diatraeae*, emergida de pupas de de *C. includens* com 24 horas de idade pode estar relacionada com a fisiologia da pupa, com pupas mais jovens sendo mais suscetíveis aos danos físicos no parasitismo ou não sobrevivendo aos venenos e outras substâncias introduzidas pelo parasitoide durante parasitismo, enquanto as mais velhas se adaptam a este processo (COLINET et al., 2005; TANG et al., 2015).

A duração do ciclo de vida de *T. diatraeae* foi semelhante ao de com pupas de *D. saccharalis* (RODRIGUES et al., 2013) e de *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) (FAVERO et al., 2014). O ciclo de vida, desse parasitoide, semelhante no hospedeiro de origem (*D. saccharalis*) e com pupas de *C. includens* indica ser este último uma alternativa para a criação de *T. diatraeae*.

A razão sexual (predominância de fêmeas em relação a população/progênie total) da progênie de *T. diatraeae* em pupas de *C. includens* é importante para o controle biológico, pois as fêmeas controlam insetos pragas, através do parasitismo (RODRIGUES et al., 2013; KUMAR et al., 2016; FERNANDES, 2018).

A maior longevidade, de descendentes de pupas mais novas é benéfica para insetos por aumentar o tempo para localizar e controlar o inseto-praga (PRATISSOLI et al., 2007; COSTA et al., 2014). Pupas mais velhas produziram indivíduos com uma menor longevidade devido ao menor valor nutricional das mesmas (SILVA, et al., 2015; PEREIRA et al., 2021).

O fato de *T. diatraeae* conseguir parasitar e se desenvolver com êxito em diferentes idades de pupas do mesmo hospedeiro demonstra a eficiência desse agente de controle biológico. *Trichospilus diatraeae* parasitará pupas de *C. includens* em campo (pupas até 144 horas) o parasitoide poderá parasitar a mesma, evitando assim o gasto energético que é utilizado no processo de procura de uma pupa adequada. Estes dados são importantes para a criação massal desse parasitoide com o uso de várias pupas para a reprodução do mesmo e nem sempre de mesma idade.



## 5. CONCLUSÃO

Fêmeas de *T. diatraeae* parasitaram e se desenvolveram em pupas de *C. includens* até 144 horas, sendo aquelas com 24 a 72 horas de idade as mais adequadas para a multiplicação desse parasitoide.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBOSA, M. S. **Seletividade de inseticidas a *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) e seu parasitismo em pupa de *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae)**. Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade da Grande Dourados – UFGD. Dourados, 2022.
- BARBOSA, M. S.; Guerra, M. S.; Pereira, F. F.; Silva, O. H. M.; Silva, I. F. Parasitism of *Tetrastichus howardi* (Ollif, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) on *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae) pupae at different ages. **Pesquisa Agropecuaria Tropical**, v. 52, e72978. 2022.
- BOFF, J. S.; Reis, A. C.; Gubiani, P. S.; Pretto, V. E.; Garlet, C. G.; Melo, A. A.; Bernardi, O. The effect of synergistic compounds on the susceptibility of *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) and *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) to pyrethroids. **Environmental Entomology**, v. 51, n. 02, p. 421-429, 2022.
- BUENO, R. C. O. F.; Raetano, C. G.; Junior, J. D.; Carvalho, F. K. Integrated management of soybean pests: the example of Brazil. **Outlooks on Pest Management**, v. 28, n. 04, p. 149–153, 2017.
- CHERIAN, M.C.; Margabandhu, V. A new species of *Trichospilus* (Hymenoptera: Chalcidoidea) from south India. **Indian Journal of Entomology**, v.4, p. 101-102, 1942.
- COLINET, H.; Salin, C.; Boivin, G.; Hance TH. Host age and fitness-related traits in a koinobiont aphid parasitoid. **Ecological Entomology**, v. 30, p. 473–479, 2005.
- CONTINI, R. E.; Franco, C. R.; Wille, C. L.; Lima, E. N. Characterization of the resistance of *Chrysodeixis includens* to diamides. **Revista Caatinga**, v. 35, n. 02, 2022.
- 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. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 57, n. 01, p. 67-71, 2014.
- FAVERO, K.; Pereira, F. F.; Kassab, S. O.; Costa, D. P.; Zanuncio, J. C. Life and fertility tables of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) with *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) pupae. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 107, n. 03, p. 621-626, 2014.
- FERNANDES, W. C. **Desempenho biológico de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em lagartas, pupas e pré-pupas de *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Erebidae) em condições de laboratório e semi-campo**. Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), 2018.
- GODFRAY, H. C. J. **Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology**. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, USA. 1994.

GREENE, G. L.; Leppla, N. C.; Dickerson, W. A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economy Entomology**, v. 69, n. 4, p. 487-488, 1976.

HARVEY J. A.; Strand M. R. The developmental strategies of endoparasitoid wasps vary with host feeding ecology. **Ecology**, v. 83, n. 09, p. 2439–2451, 2002.

HE, X. Z.; Wang, Q.; Teulon, D. A. J. Host age preference behavior in *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Aphidiidae). **Journal of insect behavior**, v. 24, p. 447 – 455, 2011.

HORIKOSHI, R. J.; Dourado, P. M.; Berger, G. U.; Fernandes, D. S.; Omoto, C.; Wills, A.; Martinelli, S.; Head, G. P.; Corrêa, A. S. Large-scale assessment of lepidopteran soybean pests and efficacy of Cry1Ac soybean in Brazil. **Scientific Reports**, v. 11, p. 1–14, 2021.

KUMAR, A.; Baitha, A.; Bareliya, P. K. Some biological aspects of pupal parasitoid, *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) on *Chilo auricilius* (Dudgeon) pupae. **Current Biotica**, v. 10, n. 02, p. 170-174, 2016.

LUCCHETTA, J. T.; Pereira, F. F.; Cardoso, C. R. G.; Wilcken, C. F.; Santos, F. A.; Palombo, I. L.; Santos, J. P.; Ramos, L. F. N.; Simoneli, B. C.; Tavares, M. T. First record in Brazil of *Brachymeria annulata* (Fabricius) (Hymenoptera: Chalcididae) and *Trichospilus diatraeae* Cherian and Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) parasitising pupae of *Iridopsis panopla* Prout (Lepidoptera: Geometridae) in eucalyptus (Myrtaceae). **The Canadian Entomologist**, v. 154, n. 23, p. 1-8, 2022.

MARTINS, D. J.; Santos, M. M.; Sales, T. S.; Silva, I. M.; Soares, M. A.; Júnior, S. L. A. Do parasitoid density and host age affect the parasitism of *Palmistichus elaeis* (Hymenoptera: Eulophidae)? **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 86, p. 1-6, 2019.

MORANDO, R. **Resistência de genótipos de feijoeiro a *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: noctuidae)**. Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Ciências Agrônomicas-UNESP, 2014.

NOFEMELA, R. S.; Kfir, R. *Diadegma mollipla* parasitizing *Plutella xylostella*: host instar preference and suitability. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 126, n.01, p. 9–17, 2008.

OLIVEIRA, H. N.; Simionato, J.; Glaeser, D. F.; Pereira, F. F. Parasitism of *Helicoverpa armigera* pupae (Lepidoptera: Noctuidae) by *Tetrastichus howardi* and *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae). Semina: **Ciências Agrárias**, v. 37, n. 01, p. 111-115, 2016.

PARRA, J. R. P. Criação massal de inimigos naturais. Em: Parra, J. R. P.; Pinto, A. S.; Nava, D. E.; Oliveira, R. C.; Diniz, A. F. F. Controle biológico com parasitoides e predadores na agricultura brasileira; **FEALQ**. Piracicaba, p. 379-400, 2021.

PARON, M. R.; Berti-Filho, E.; Capacidade reprodutiva de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de diferentes hospedeiros (Lepidoptera). **Scientia Agricola**, n 57, p. 355-358, 2000.

PEREIRA, F. F.; Zanuncio, J. C.; Tavares, M. T.; Pastori, P. L.; Jacques, G. C. New Record of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) as a parasitoid of the eucalypt defoliator *Thyrinteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) in Brazil. **Phytoparasitica**, v. 36, p. 304–306, 2008.

PEREIRA, F. F.; Zanuncio, J. C.; Serrão, J. E.; Oliveira, H. N.; Fávero, K.; Grance, E. L. V. Progeny of *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) parasitising pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) of different ages. **Neotropical Entomology**, v. 38, n. 05, p. 660-664, 2009.

PEREIRA, R.; Neves, D.; Campos, J.; Santana Júnior, P.; Hunt, T.; Picanço, M. Natural biological control of *Chrysodeixis includens*. **Bulletin of Entomological Research**, v. 108, n. 06, p. 831-842, 2018.

PEREIRA, F. F.; Pastori, P. L.; Kassab, S. O.; Torres, J. B.; Cardoso, C. R. G.; Fernandes, W. C.; Oliveira, H. N.; Zanuncio, J. C. Uso de eulofídeos no controle biológicos de pragas. Em: Parra, J. R. P.; Pinto, A. S.; Nava, D. E.; Oliveira, R. C.; Diniz, A. F. F. Controle biológico com parasitoides e predadores na agricultura brasileira; **FEALQ**. Piracicaba, p. 317-361, 2021

PFANNENSTIEL, R. S.; Browning, H. W.; Smith-Jr, J. W. Suitability of Mexican rice borer (Lepidoptera: Pyralidae) as a host for *Pediobius furrus* (Hymenoptera: Eulophidae). **Environmental Entomology**, v. 25, n. 3 p. 672–676, 1996.

PRATISSOLI, D.; Polanczyk, R. A.; Pereira, C. L. T.; Furtado, I. S. A.; Cochetto, J. G. Influência da fase embrionária dos ovos da traça-das-crucíferas sobre fêmeas de *Trichogramma pretiosum* com diferentes idades. **Horticultura Brasileira**, v. 25, n. 2, p. 286-290, 2007.

PONCIO, S.; Montoya, P.; Cancino, J.; Nava, D. E. Best hoste age of *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae) for multiplication of four native parasitoids from the Americas. **Journal of Insect Science**, v. 18, n. 02, p. 01-08, 2018

RODRIGUES, M. A. T.; Pereira, F. F.; Kassab, S. 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. **Florida Entomologist**, v. 96 n. 01, p. 154 -159, 2013.

SILVA, I. M.; 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) of various ages. **Florida Entomologist**, v. 98, n. 04, p. 1025-1029, 2015.

TANG, LD.; Ji, XC.; Han, Y.; Fu, BL.; Liu, K. Paratism, emergence, and developmente of *Spalangia endius* (Hymenoptera: Pteromalidae) in pupae of diferente ages of *Bactrocera cucurbitae* (Diptera: Tephritidae). **Journal of Insect Science**, v.15, n. 01, p. 15-15, 2015.

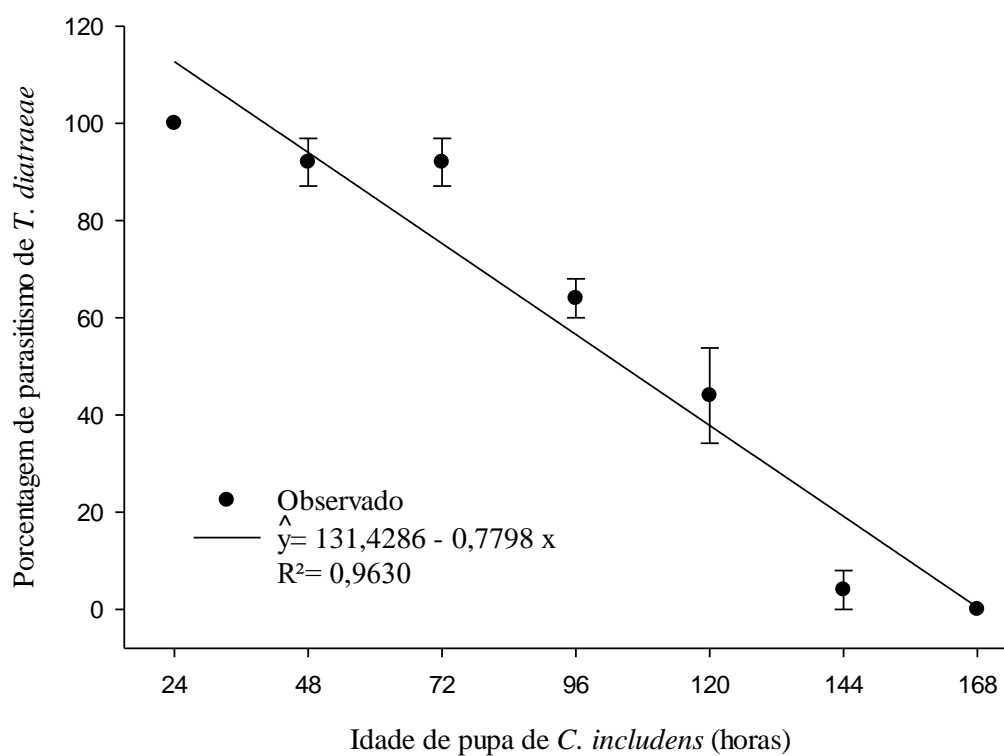
WANG XG. Liu, SS. Effects of host age on the performance of *Diadromus collaris*, a pupal parasitoid of *Plutella xylostella*. **BioControl**, v. 47, p. 293 – 307, 2002.

**Quadro 1:** Ciclo de vida (ovo – adulto) (CV) e razão sexual (RS) de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) de diferentes idades a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 h

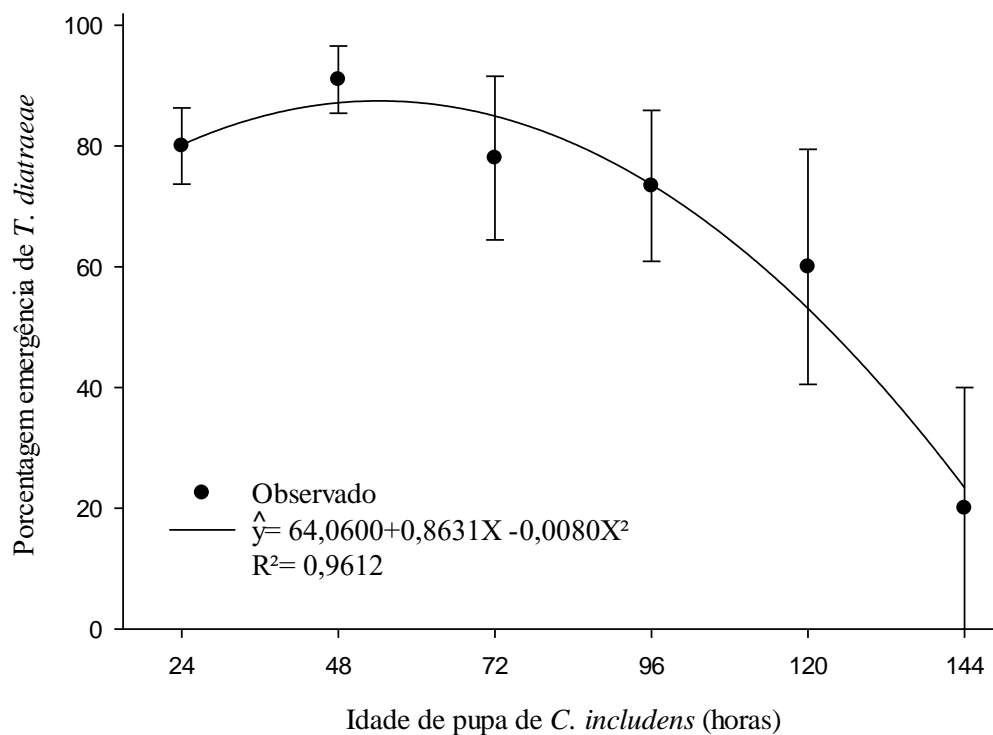
Trat	24	48	72	96	120	144	168	M. G. <sup>1</sup>	C.V. <sup>2</sup>
CV *	21,62±	21,63±	21,01±	21,60±	21,17±	21,0±	_	21,34±	1,33
	0,36	0,27	0,32	0,40	0,26	0,00		0,12	%
RS*	0,94±	0,94±	0,96±	0,95±	0,96±	0,95±	_	0,95±	1,03
	0,02	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00		0,00	%

N.S\* – Não significativo pela análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de probabilidade. M. G.<sup>1</sup> - Média geral.

C.V.<sup>2</sup> – Coeficiente de variação.

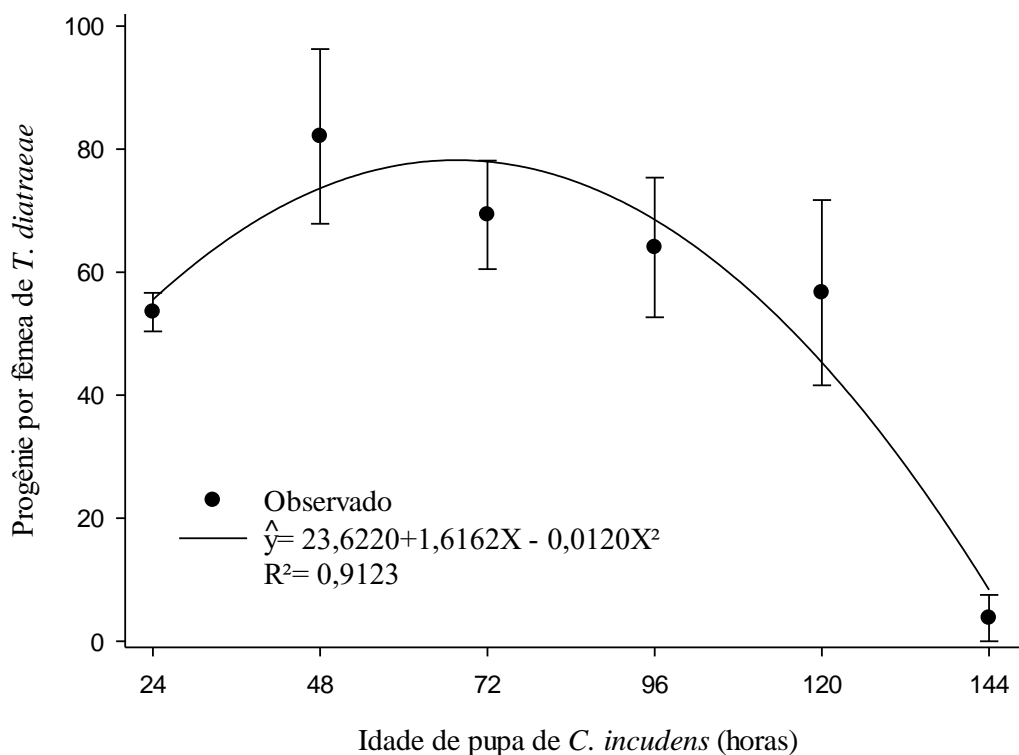


**Figura 1.** Parasitismo (%) de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) com diferentes idades a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 h. ( $P = 0,005$  e  $F = 63,8905$ )

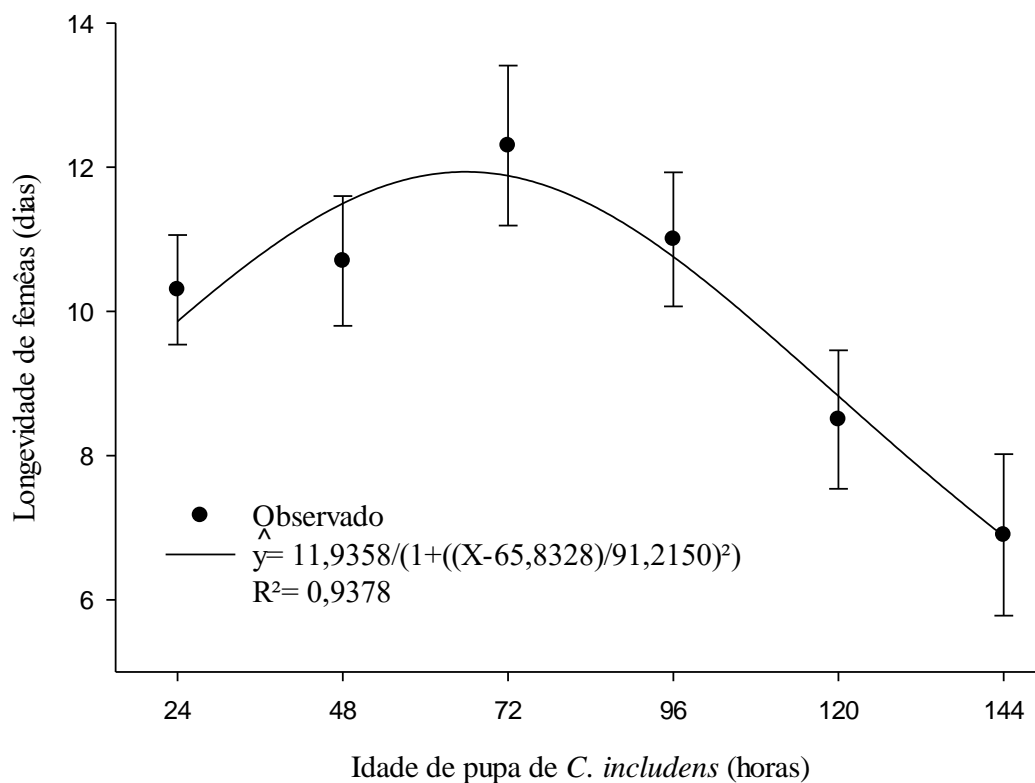


**Figura 2.** Emergência (%) *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) com variação na idade das pupas de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae), a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 h. ( $P = 0,0076$  e  $F = 37,1869$ )

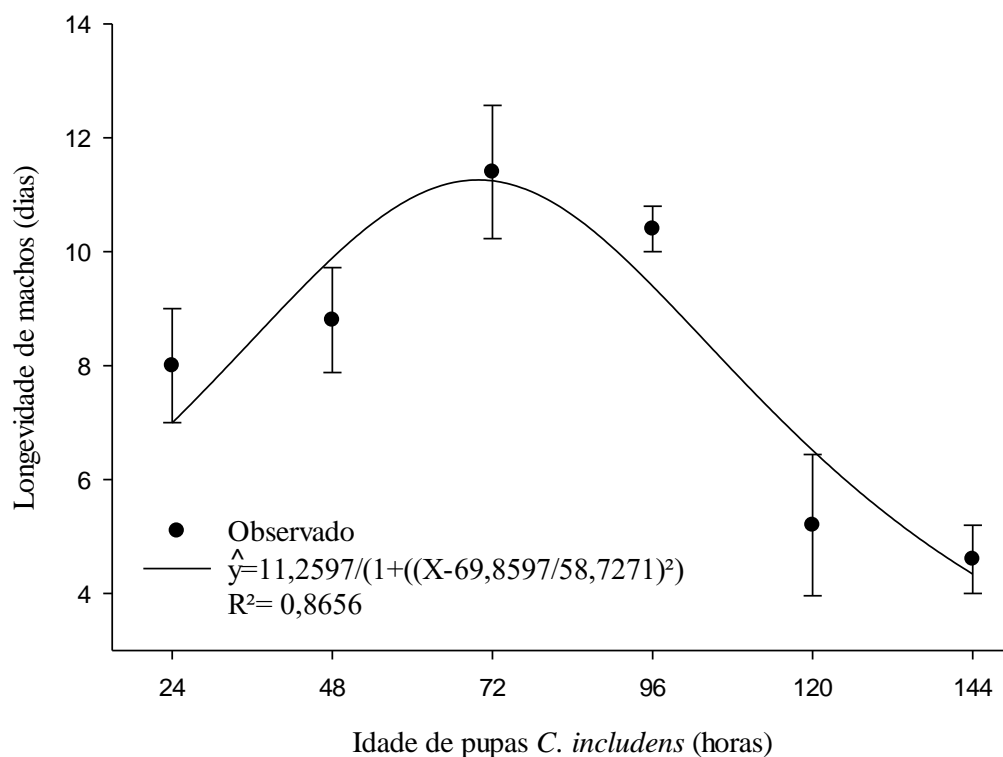




**Figura 3.** Progenie total (número de descendentes emergidos) de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em função da variação na idade das pupas de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae), a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 h. ( $P = 0,0260$  e  $F = 15,5993$ ).



**Figura 4.** Longevidade de fêmeas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em função da variação na idade das pupas de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae), a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 h. ( $P = 0,0155$  e  $F = 22,5967$ ).



**Figura 5.** Longevidade de machos (dias) de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em função da variação na idade das pupas de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae), a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 h. ( $P = 0,0493$  e  $F = 9,6637$ ).

**CAPÍTULO III**  
**REPRODUÇÃO DE *Trichospilus diatraeae* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE)**  
**EM PUPAS DE *Chrysodeixis includens* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) APÓS**  
**DIFERENTES PERÍODOS SO REFRIGERAÇÃO**

**RESUMO**

O armazenamento de pupas em baixa temperatura conserva e prolonga o desenvolvimento do inseto. Este processo permite produzir parasitoides, continuamente, compensando épocas com escassez de hospedeiro ou períodos inesperados de alta demanda. O endoparasitoide *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942, é um parasitoide pupal, de insetos pragas. *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]), é conhecida como lagarta falsa medideira da soja. O objetivo desse trabalho foi avaliar o parasitismo, emergência, duração do ciclo de vida, número de parasitoides emergidos por pupa de *C. includens* (progênie), razão sexual e longevidade de fêmeas e machos de *T. diatraeae* em pupas de *C. includens*, previamente, armazenadas a  $7,86 \pm 2$  °C por diferentes períodos. Trezentos e cinquenta pupas de *C. includens*, com 24h de idade, foram armazenadas em geladeira a  $7,86 \pm 2$  °C, por zero, cinco, dez, 15, 20, 25 e 30 dias e, após o período de armazenamento, individualizadas com uma fêmea de *T. diatraeae* de 48 horas, em tubos de vidro (8,5 x 2,5 cm) por um período de 24h a 25°C e 12 h de fotofase. As fêmeas de *T. diatraeae* foram, retiradas dos tubos ao final do período de exposição ao parasitismo, e mantidas na temperatura citada até a emergência de seus descendentes para avaliação das características biológicas. Fêmeas de *T. diatraeae* parasitaram e produziram progênie em pupas de *C. includens* armazenadas a 7,86°C em todos os períodos de armazenamento, sendo o até 15 dias, o mais indicado para a produção massal desse parasitoide.

**Palavras-chave:** Eulophidae, falsa-medideira, parasitoide, temperatura

**CHAPTER III**  
**REPRODUCTION OF *Trichospilus diatraeae* (HYMENOPTERA:**  
**EULOPHIDAE) IN PUPES OF *Chrysodeixis includens***  
**(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) AFTER DIFFERENT PERIODS OF**  
**REFRIGERATION**

**ABSTRACT**

Storage of pupae at low temperature conserves and prolongs insect development. This process makes it possible to continuously produce parasitoids, compensating for periods with host shortages or unexpected periods of high demand. The endoparasitoid *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942, is a pupal parasitoid of insect pests. *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]), is known as the soybean bollworm. The objective of this work was to evaluate the parasitism, emergence, duration of the life cycle, number of parasitoids emerged per pupa of *C. includens* (progeny), sex ratio and longevity of females and males of *T. diatraeae* in pupae of *C. includens*, previously stored at  $7.86 \pm 2$  °C for different periods. Three hundred and fifty pupae of *C. includens*, 24 hours old, were stored in a refrigerator at  $7.86 \pm 2$  °C, for zero, five, ten, 15, 20, 25 and 30 days and, after the storage period, individualized with a 48-hour female *T. diatraeae*, in glass tubes (8.5 x 2.5 cm) for a period of 24h at 25°C and 12h of photophase. The females of *T. diatraeae* were removed from the tubes at the end of the period of exposure to parasitism, and kept at the mentioned temperature until the emergence of their descendants for evaluation of the biological characteristics. Females of *T. diatraeae* parasitized and produced progeny in pupae of *C. includens* stored at 7.86°C in all storage periods, with up to 15 days being the most suitable for the mass production of this parasitoid.

**Keywords:** Eulophidae, parasitoid, temperature, false-meter.

## 1. INTRODUÇÃO

Parasitoides são eficientes em programas de controle biológico em diferentes culturas. A criação e multiplicação de parasitoide necessitam de infraestrutura adequada, priorizando a alta qualidade e baixo custo na criação desses insetos e seus hospedeiros (TIAGO et al., 2019; SILVA, et al., 2019).

O sucesso de programas de controle biológico depende da criação de parasitoides em larga escala. Para essa criação massal é necessário o desenvolvimento de técnicas adequadas de armazenamento para aumentar a disponibilidade de hospedeiros e parasitoides ao longo do ano (SILVA et al., 2019).

O armazenamento de pupas em baixa temperatura permite se conservar e prolongar a duração do estágio de desenvolvimento do inseto, pela redução da atividade metabólica (KONDUR, 2020). O armazenamento em baixas temperaturas visa armazenar o hospedeiro sem afetar as características biológicas do parasitoide, como parasitismo, emergência, progênie (PASTORI, et al., 2013). Este processo permite produzir ao longo do ano parasitoides, compensando épocas com escassez de hospedeiros ou períodos inesperados de alta demanda (PEREIRA et al., 2021).

O endoparasitoide *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), é um parasitoide de pupas, de diferentes insetos pragas. Esse inimigo natural foi descrito no sul da Índia em exemplares coletados de pupas de *Diatraea venosata* (Walker, 1863) (Lepidoptera: Crambidae) conhecida como broca da haste de gramíneas (CHERIAN & MARGABANDHU, 1942). Á seguir, foi relatado em diferentes países e hospedeiros e, no Brasil seu primeiro registro foi em pupas de Arctiidae (PARON & BERTI-FILHO, 2000).

*Trichospilus diatraeae* foi registrado parasitando diversos lepidópteros, incluindo *Thyrinteina arnobia* (Stoll, 1782) (PEREIRA et al., 2008) e *Melanolophia consimilaria* (Walker, 1860) (Lepidoptera: Geometridae) (ZACHÉ et al., 2010) e *Iridopsis panopla* Prout, 1932 (Lepidoptera: Geometridae) (LUCCHETTA, et al., 2022) em plantios de eucalipto. Pupas de pragas de importância agrícola como *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Pyralidae), *Heliothis armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae), *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae), *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), (PARON & BERTI-FILHO, 2000), *Spodoptera cosmioides* Walker, 1858 (Lepidoptera:

Noctuidae) (ZACHÉ, et al., 2012), *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1805) (Lepidoptera : Noctuidae) (OLIVEIRA, et al., 2016) foram aptas para o desenvolvimento de *T. diatraeae* em trabalhos de campo e laboratório. Além disso, parasitou e se desenvolveu em pupas *Tenebrio molitor* L. 1758 Coleoptera: Tenebrionidae) em laboratório (FAVERO et al., 2014).

*Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae), conhecida como lagarta falsa medideira da soja, é polífaga danificando plantas de 28 famílias, incluindo soja (*Glycine max* (L.) Merrill), algodão (*Gossypium hirsutum* L.), tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), girassol (*Helianthus annuus* L.) e corda-de-viola (*Ipomoea sp.*) (ANDRADE et al., 2016). Essa praga é controlada, principalmente com inseticidas químicos, porém sua resistência a inseticidas foi relatada, tornando necessário se utilizar outros métodos de controle no seu manejo. Entomopatógenos, parasitoides e predadores tem sido relatado controlando, naturalmente, essa praga, principalmente nas fases de ovo, lagarta e pupa (BUSS et al., 2022; PEREIRA et al., 2018).

O objetivo desse trabalho foi avaliar a progênie de *T. diatraeae* em pupas de *C. includens*, previamente, armazenadas a  $7,86 \pm 2^\circ\text{C}$  por diferentes períodos.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Localização do experimento

Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) (22° 11'56,56" S, 54° 56' 1,396" W) da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA) da Universidade Federal da Grande Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

### 2.2. Criação do hospedeiro para condução dos experimentos

Duzentas pupas sexadas (125 fêmeas e 75 machos) de *C. includens*, da criação estoque do LECOBIOL, foram acondicionadas em gaiolas de PVC (25 cm de diâmetro por 30 cm de altura) revestidas de papel sulfite rosa, usado para a oviposição. Uma tela de proteção na parte superior foi colocada para evitar a fuga dos insetos adultos e um frasco de 50ml com solução água e mel a 10% tampado com um furo no centro onde foi colocado um pedaço de algodão para os adultos se alimentarem. As folhas com postura foram retiradas da gaiola dos adultos, cortadas em tiras longitudinais e colocadas em dieta artificial (GREENE et al., 1976) em recipientes de 30cm de comprimento por 20 cm de largura e 10cm de altura. Após a completa eclosão das lagartas (cerca de três dias), as folhas de sulfite foram retiradas dos recipientes, para evitar que as lagartas recém-eclodidas não chegassem até a dieta, ocasionando, portanto, a morte das mesmas por inanição (MORANDO, 2014; BARBOSA, 2022).

A dieta foi trocada sempre que tivesse indícios de perda de umidade e as lagartas eram passadas da dieta velha (seca e escura) para a nova com auxílio de um pincel de cerdas macias. O cuidado durante o manuseio nos primeiros ínstaes é crucial, pois as lagartas são muito frágeis (MORANDO, 2014; BARBOSA, 2022).

As pré-pupas de *C. includens* foram retiradas e acondicionadas em recipientes cobertos com papel umedecido para evitar o canibalismo por outras lagartas de último instar, até se transformarem em pupas. A fase pupal durou em média dez dias em laboratório. As pupas foram sexadas e separadas para a criação desse inseto e/ou para a manutenção da criação dos parasitoides. Duzentas pupas foram colocadas em duas placas de acrílico em gaiola de PVC para a emergência dos adultos de *C. includens* (MORANDO, 2014).



As gaiolas foram posicionadas sobre iluminação artificial para a estimulação da cópula e da oviposição. A iluminação foi através de duas lâmpadas fluorescentes dispostas paralelamente (MAXXI® F 18W T8 Rosa do tipo Gro-lux e SYLVANIA® F 20W T10 5000K Luz do dia Plus) ligadas por um timer com um fotoperíodo de 14 horas de luz (BARBOSA, 2022).

### 2.3. Criação do parasitoide para o experimento

Adultos de *T. diatraeae* foram obtidos da criação estoque do laboratório. Pupas de *T. molitor* (com 24 horas de idade) e de *D. sacharallis* (com 24 a 72 horas de idade), foram expostas ao parasitismo por cinco fêmeas desse parasitoide com 48 horas de idade (protocolo de criação estabelecido no LECOBIOL), mantidos em tubos de ensaio (8,0 × 2,0 cm) tampados com algodão e contendo uma gotícula de mel puro (alimento para os insetos), à  $25 \pm 2$  °C, umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas até a emergência da progênie para manter a criação do parasitoide (VARGAS et al., 2013).

### 2.4. Desenvolvimento experimental do armazenamento de pupas

Pupas de *C. includens* foram armazenadas em refrigerador (Consul Frost Free modelo CRB36) foi adicionado uma caixa de isopor na parte inferior dentro do mesmo com um termômetro em seu interior.

Trezentos e cinquenta pupas de *C. includens*, divididas em sete placas de Petri com 50 pupas pesadas com 24h de idade, em cada uma, foram armazenadas na parte inferior da geladeira, dentro da caixa de isopor, a  $7,86 \pm 2$  °C, por zero, cinco, dez, 15, 20, 25 e 30 dias (Anexo 5). As pupas foram, após o período de armazenamento, deixadas por 30 minutos em temperatura ambiente e, após isso, individualizadas com uma fêmea de *T. diatraeae* de 48 horas de idade, acasalada e alimentada, em tubos de vidro (8,5 x 2,5 cm) por 24h a 25°C e 14 h de fotofase. Ao final do período de exposição ao parasitismo, as fêmeas de *T. diatraeae* foram retiradas dos tubos e as pupas de *C. includens* mantidas na temperatura citada, até a emergência dos descendentes de *T. diatraeae* para avaliação das seguintes características biológicas (Anexo 6). Porcentagem de parasitismo [(número de pupas que não emergiram adultos de *C. includens*)/ (número de pupas) x 100]; porcentagem de emergência [(número de

pupas de *C. includens* com emergência de adultos do parasitoide)/ (número de pupas parasitadas) x 100]; duração do ciclo de vida (da exposição da pupa ao parasitismo até a emergência de adultos do parasitoide); o número de parasitoides emergidos por pupa (progênie); a razão sexual ( $=\frac{\text{♀}}{\text{♀} + \text{♂}}$ ); e longevidade de fêmeas e machos (período da emergência até a morte dos adultos) (PEREIRA et al., 2021). Machos e fêmeas do parasitoide foram separados de acordo com as características morfológicas de suas antena (fêmeas com inserção das antenas na parte central da cabeça em formato de V e nos machos, lateralmente, em formato de U) e no aparelho bucal mais desenvolvido da fêmea (PARON, 1999) (Anexo 3).

A mortalidade natural de pupas de *C. includens* foi calculada nas mesmas condições ambientais do experimento e usada para corrigir a ocasionada pelo parasitoide (ABBOTT, 1925). Isso foi feito com 50 pupas não parasitadas, individualizadas em tubos de vidro e submetidas às mesmas condições ambientais dos experimentos. O número de adultos de *C. includens* emergidos foi determinado. A longevidade de *T. diatraeae* foi avaliada com 10 fêmeas escolhidas ao acaso nos descendentes de cada tratamento individualizadas em tubos de vidro e alimentados com gotículas de mel puro dispersas no interior do tubo de vidro.

## 2.5 Análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com sete tratamentos (seis períodos de armazenamento mais a testemunha com pupas não armazenadas com 24h de idade) e dez repetições, tendo cada repetição um grupo de cinco pupas de *C. includens* individualizadas, totalizando 50 pupas por tratamento. Os dados de parasitismo, emergência, duração do ciclo de vida, número de parasitoides emergidos por pupa de *C. includens* (progênie), razão sexual e longevidade de fêmeas e machos de *T. diatraeae* foram submetidos à análise de variância e, quando significativos a 5% de probabilidade a análise de regressão. A equação que melhor se ajustar aos dados foi escolhida com base no coeficiente de determinação ( $R^2$ ), na significância dos coeficientes de regressão ( $\beta_i$ ) e na análise de variância de regressão pelo teste F (ao nível de 5% de probabilidade).

### 3. RESULTADOS

Adultos de *C. includens* emergiram de 96% das pupas desse inseto separadas no teste de mortalidade natural. A temperatura média diária no experimento foi de  $7,86 \pm 2^\circ\text{C}$

O parasitismo (%), a duração do ciclo (ovo-adulto), razão sexual e longevidade de fêmeas foram semelhantes entre tratamentos avaliados, com média geral de  $88,86 \pm 2,89\%$ ,  $21,30 \pm 0,33$  dias,  $0,9751 \pm 0,00$  e  $7,64 \pm 0,40$  dias, respectivamente (Quadro 1).

*Trichospilus diatraeae* emergiu de pupas de *C. includens* em todos os tratamentos, porém seu número variou por período de armazenamento diferindo entre tratamentos ( $P= 0,0152$  e  $F= 13,1354$ ), diminuindo com o aumento do período de armazenamento das pupas de *C. includens* e com o maior valor sem armazenamento,  $88 \pm 6,11\%$ , e o menor com 30 dias de armazenamento  $54 \pm 8,49\%$  (Figura 1).

A progênie total ( $P= 0,0059$  e  $F= 21,0693$ ) variou com os períodos de armazenamento diferindo em todos os tratamentos e com relação direta ao aumento do período de armazenamento. A maior progênie foi sem armazenamento,  $143,25 \pm 4,04$ , e a menor com 30 dias de armazenamento,  $84,05 \pm 14,77$  indivíduos (figura 2).

#### 4. DISCUSSÃO

O parasitismo médio de  $88,86 \pm 2,89$  indica que pupas de *C. includens* podem ser utilizadas para multiplicar o parasitóide *T. diatraeae*. O parasitismo de pupas de *C. includens*, após armazenadas a  $7,86$  °C, em todos os tratamentos demonstra características apropriadas para o parasitismo dessas pupas (HARVEY et al., 2013; OLIVEIRA, et al., 2016).

A emergência de *T. diatraeae* em todos os tratamentos e com maiores valores naquele sem armazenamento, enquanto no tratamento com pupas armazenadas por 30 dias teve menor emergência. O efeito do período de armazenamento das pupas na emergência de *T. diatraeae* é semelhante ao relatado para pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae) (PASTORI et al., 2013). No entanto, o armazenamento por períodos longos pode causar alterações físicas, bioquímicas e morfológicas nas pupas hospedeiras, modificando a qualidade nutricional do hospedeiro, e conseqüentemente o desenvolvimento do parasitoide diminuindo sua emergência (TIAGO et al., 2019).

A semelhança na duração do ciclo de vida de *T. diatraeae* em pupas armazenadas de *C. includens*, indica que o desenvolvimento do parasitoide não foi afetado pelo do período de armazenamento (PASTORI et al., 2013).

A redução da progênie com o aumento do período de armazenamento indica impacto negativo do aumento do mesmo (PASTORI et al., 2013). A viabilidade da progênie de *T. diatraeae* em pupas com mais de 20 dias de armazenamento se mostra viável, tendo um período maior que o relatado para *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas armazenadas de *Tenebrio molitor* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Tenebrionidae), (TIAGO et al., 2019). O aumento do período de armazenamento a frio pode causar danos nas células da pupa, reduzindo sua qualidade nutricional e reações metabólicas (PEVERIERI et al., 2015). Além disso, pode dessecar o hospedeiro transformando os nutrientes livres, em nutrientes mais complexos e de difícil absorção pelo parasitoide (PEVERIERI et al., 2013).

A razão sexual e longevidade de vida de fêmeas semelhantes com os períodos de armazenamento é importante pois quanto maior o número de fêmeas maior o controle biológico, pois parasitoides fêmeas controlam os insetos praga. A maior

longevidade de fêmeas é importante para aumentar a área de forrageamento e encontro do inseto-praga (VARGAS et al., 2013; SCHEINER & MARTIN, 2020).

O armazenamento de pupas facilita manter hospedeiros viáveis por períodos mais longos e sua oferta naqueles mais escassos, ou quando se tem uma demanda maior de produção dos parasitoides.

## 5. CONCLUSÃO

Fêmeas de *T. diatraeae* parasitaram e se desenvolveram em pupas de *C. includens* após armazenadas a 7,86°C em todos os períodos de armazenamento, mas o de 15 dias foi o mais indicado para a produção desse parasitoide em larga escala.

## 6. REFERÊNCIAS

- ANDRADE, K.; Bueno, A. F.; Silva, D. M.; Stecca, A. P.; Oliveira, M. C. N. Bioecological characteristics of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) fed on different hosts. **Austral Entomology**, v. 55, p. 449- 454, 2016.
- BARBOSA, M. S. **Seletividade de inseticidas a *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) e seu parasitismo em pupa de *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae)**. Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em agronomia, da Universidade da Grande Dourados – UFGD. Dourados, 2022.
- BUSS, N.; Restelatto, S. S.; Contini, R. E.; Bueno, A. F.; Bernardi, O.; Boff, M. I. C.; Franco, C. R. Comparative susceptibility of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: *Erebidae*) and *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: *Noctuidae*) to insecticides. **Ciência Rural**, v. 52, n. 08, 2022.
- CHERIAN, M.C.; Margabandhu, V. A new species of *Trichospilus* (Hymenoptera: Chalcidoidea) from south India. **Indian Journal of Entomology**, v.4, p. 101-102, 1942.
- FAVERO, K.; Pereira, F. F.; Kassab, S. O.; Costa, D. P.; Zanuncio, J. C. Life and fertility tables of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) with *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) pupae. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 107, n. 03, p. 621-626, 2014.
- GREENE, G. L.; Leppla, N. C.; Dickerson, W. A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial médium. **Journal of Economy Entomology**, v. 69, n. 4, p. 487-488, 1976.
- HARVEY, J. A.; Poelman, E. H.; Tanaka, T. Intrinsic inter-and intraspecific competition in parasitoid wasps. **Annual Review of Entomology**, v. 58, n. 01, p. 333-351, 2013.
- KONDUR, Y. Effect of Storage Temperature and duration in pupal stage on emergence and some biological properties of *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Fresenius Environmental Bulletin**, v. 26, n. 11, p. 6749-6759, 2020.
- LUCCHETTA, J. T.; Pereira, F. F.; Cardoso, C. R. G.; Wilcken, C. F.; Santos, F. A.; Palombo, I. L.; Santos, J. P.; Ramos, L. F. N.; Simoneli, B. C.; Tavares, M. T. First record in Brazil of *Brachymeria annulata* (Fabricius) (Hymenoptera: Chalcididae) and *Trichospilus diatraeae* Cherian and Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) parasitising pupae of *Iridopsis panopla* Prout (Lepidoptera: Geometridae) in eucalyptus (Myrtaceae). **The Canadian Entomologist**, v. 154, n. 23, p. 1-8, 2022.

MORANDO, R. **Resistência de genótipos de feijoeiro a *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: noctuidae)**. Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Ciências Agrônomicas-UNESP, 2014.

OLIVEIRA, H. N.; Simionato, J.; Glaeser, D. F.; Pereira, F. F. Parasitism of *Helicoverpa armigera* pupae (Lepidoptera: Noctuidae) by *Tetrastichus howardi* and *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 01, p. 111-115, 2016.

PARON, M. R. **Bioecologia de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) endoparasitoide de Lepidoptera**. Tese apresentada a Escola Superior Luiz de Queiroz, da Universidade Estadual de São Paulo – ESALQ- USP. Piracicaba, 1999.

PARON, M. R.; Berti-Filho, E.; Capacidade reprodutiva de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de diferentes hospedeiros (Lepidoptera). **Scientia Agricola**, n 57, p. 355-358, 2000.

PASTORI, P. L.; Zanuncio, J. C.; Pereira, F. F.; Pratisoli, D.; Cecon, P. R.; Serrão, J. E. Temperatura e tempo de refrigeração de pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera:Noctuidae) afetam parâmetros biológicos de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae)? **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 4, p. 1493-1507, 2013.

PEREIRA, F. F.; Zanuncio, J. C.; Tavares, M. T.; Pastori, P. L.; Jacques, G. C. New Record of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) as a parasitoid of the eucalypt defoliator *Thyrinteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) in Brazil. **Phytoparasitica**, v. 36, p. 304–306, 2008.

PEREIRA, R.; Neves, D.; Campos, J.; Santana- Júnior, P.; Hunt, T.; Picanço, M. Natural biological control of *Chrysodeixis includens*. **Bulletin of Entomological Research**, v. 108, n. 06, p. 831-842, 2018.

PEREIRA, F. F.; Pastori, P. L.; Kassab, S. O.; Torres, J. B.; Cardoso, C. R. G.; Fernandes, W. C.; Oliveira, H. N.; Zanuncio, J. C. Uso de eulofídeos no controle biológicos de pragas. Em: Parra, J. R. P.; Pinto, A. S.; Nava, D. E.; Oliveira, R. C.; Diniz, A. F. F. Controle biológico com parasitoides e predadores na agricultura brasileira; **FEALQ**. Piracicaba, p. 317-361, 2021.

PEVERIERI, G. S.; Furlan, P.; Benassai, D.; Caradonna, S.; Strong, W. B.; Roversi, P. F. Host egg age of *Leptoglossus occidentalis* (Heteroptera, Coreidae) and parasitism by *Gryon pennsylvanicum* (Hymenoptera, Platygasteridae). **Journal of Economic Entomology**, v. 106, n. 02, p. 633–640, 2013.

PEVERIERI, G. S.; Furlan, P.; Benasai, D.; Forte, A. B.; Roversi, P. F. Long-term storage of eggs of *Leptoglossus occidentalis* for the mass-rearing of its parasitoid *Gryon pennsylvanicum*. **BioControl**, v. 60, p. 293-306, 2015.



SCHEINER, C.; Martin E. A. Spatiotemporal changes in landscape crop composition differently affect density and seasonal variability of pests, parasitoids and biological pest control in cabbage. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 301, n. 7, p. 01-09, 2020.

SILVA, G. V.; Bueno, A. F.; Favetti, B. M.; Neves, P. M. O. J. Use of low temperature storage to preserve host and parasitoid to improve the rearing of *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygasteridae) on *Euchistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) eggs. **Neotropical Entomology**, v. 48, p. 126-135, 2019.

TIAGO, E. F.; Pereira, F. F.; Kassab, S. O.; Barbosa, R. H.; Cardoso, C. R. G.; Sanomia, W. Y.; Pereira, H. C.; Silva, R. M. M. F.; Zanuncio, J. C. Biological quality of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) reared with *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) pupae after cold storage. **Florida Entomologist**, v.102, n.03, p. 571-576, 2019.

VARGAS, E. L.; Pereira, F. F.; Calado, V. R. F.; Glaeser, D. F.; Rodrigues, B. A. C.; Silva, N. V. Densidade de fêmeas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) por pupa de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Sitientibus série Ciências Biológicas**, v. 13, p. 1-7, 2013.

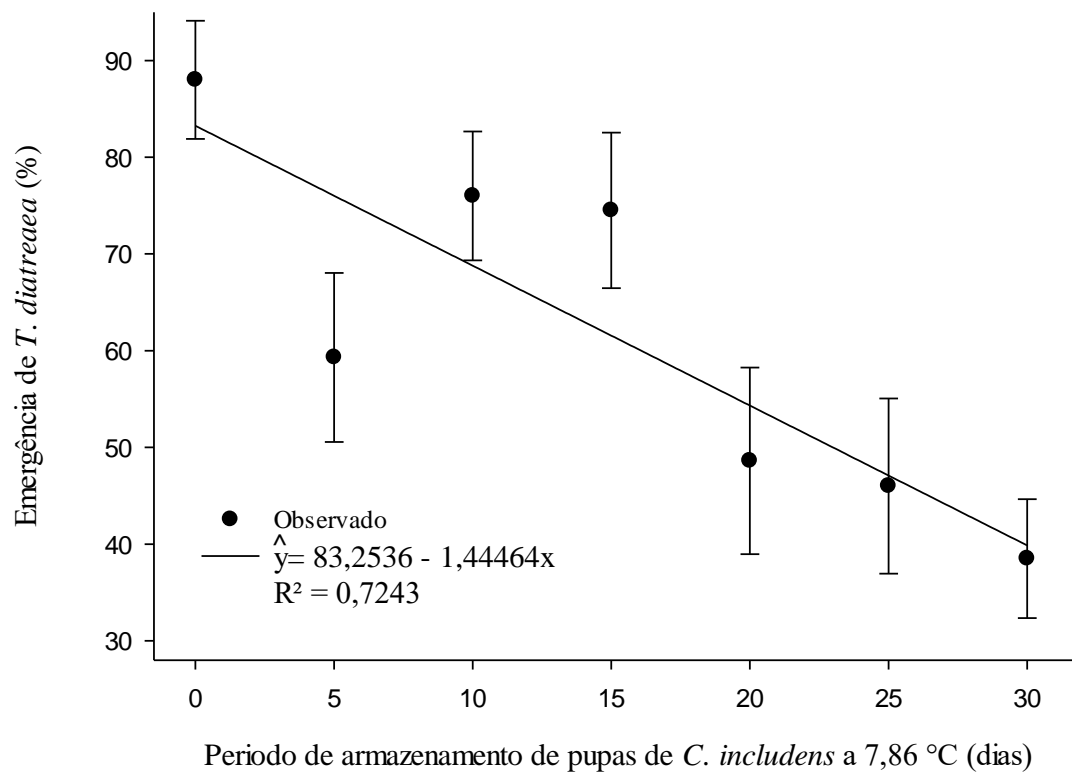
ZACHÉ, B.; Wilcken, C. F.; Dacosta, R. R.; Soliman, E. P. *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), a new parasitoid of *Melanolophia consimilaria* (Lepidoptera: Geometridae). **Phytoparasitica**, v. 38, p. 355–357, 2010.

ZACHÉ, B., Wilcken, C. F., Zaché, R. R. C.; Souza, N. M. Novo registro de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), como parasitóide de *Spodoptera cosmioides* Walker, 1858 (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. **Biota Neotropica**, v. 12, n. 01, p. 319-322, 2012.

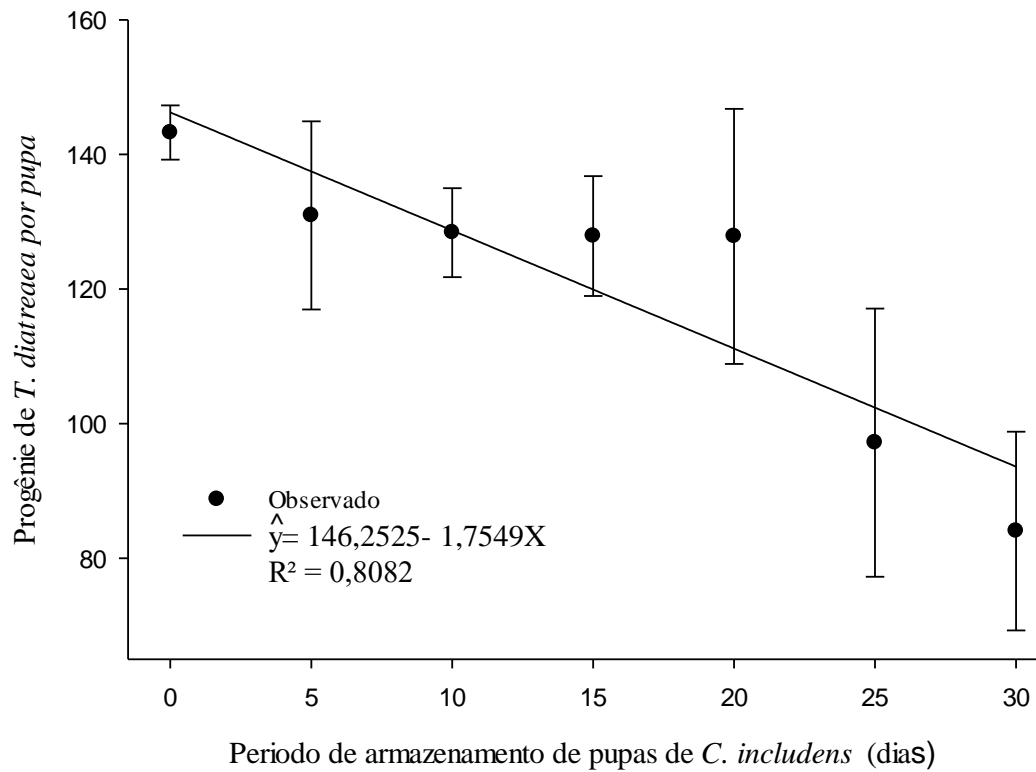
**Quadro 1:** Parasitismo (%), ciclo de vida (ovo – adulto), razão sexual (RS) e longevidade (Long.) de fêmeas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) após armazenamento a 7,86 °C, 70 ± 10% de umidade relativa e armazenamento por 0, 5, 10, 15, 20, 25 ou 30 dias

Dias	Parasitismo	Ciclo (dias)	RS	Long. ♀
0	96±2,67	20,82±0,37	0,97±0,00	6,60±0,58
5	84±5,81	20,27±0,31	0,97±0,00	7,90±0,36
10	90±3,33	20,83±0,25	0,96±0,01	8,80±0,49
15	90±3,33	22,26±0,54	0,97±0,00	7,60±0,73
20	94±4,27	22,06±0,31	0,98±0,00	7,00±0,48
25	94±3,06	20,55±0,46	0,97±0,01	9,20±0,44
30	74±6,70	22,33±0,24	0,97±0,00	6,40±0,37
Média geral	88,86±2,89	21,30±0,33	0,97±0,00	7,64±0,40
C.V.	8,61%	4,13%	0,52%	14,01%

ns – Não significativo pela análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de probabilidade. C.V. – Coeficiente de variação.



**Figura 1.** Emergência (%) *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) com variação no período de armazenamento em baixa temperatura de pupas de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae), a 7,86°C, após armazenamento por 0, 5, 10, 15, 20, 25 ou 30 dias,



**Figura 2.** Progênie total (número de descendentes emergidos) de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) com variação no período de armazenamento em baixa temperatura de pupas de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae), a 7,86°C

**CAPÍTULO IV**  
**SELETIVIDADE DE INSETICIDAS UTILIZADOS NO CONTROLE DE**  
**LAGARTAS DA SOJA AO PARASITOIDE PUPAL *Trichospilus diatraeae***  
**(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE)**

Artigo publicado na revista *Insects* como parte das exigências do Programa de Pós  
Graduação em Agronomia

**RESUMO**

Testes de seletividade de inseticidas são importantes para se determinar a mortalidade da entomofauna benéfica. O objetivo foi avaliar a seletividade de inseticidas, utilizados no manejo de lagartas desfolhadoras na cultura da soja no Brasil, para fêmeas do parasitóide pupal *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae). Acefato, azadiractina, *Bacillus thuringiensis* (Bt), deltametrina, lufenuron, teflubenzurom e tiametoxam + lambda-cialotrina, nas maiores concentrações conforme recomendações do fabricante para o manejo de *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura da soja, foram utilizados, sendo o controle com água. Os produtos e a água foram borrifados em folhas de soja, deixadas para secar naturalmente, e colocadas cinco folhas por gaiola (cilindro de vidro com 3,50 cm de diâmetro × 25,00 cm de comprimento), com 10 fêmeas de *T. diatraeae*. Os dados de mortalidade do parasitóide, após 24 horas de exposição, foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas utilizando o teste de Tukey HSD ( $\alpha=0.05$ ). Curvas de sobrevivência, para esse inimigo natural, foram elaboradas entre 24 e 120 horas após exposição aos tratamentos utilizando o método de Kaplan-Meier, sendo os pares das curvas comparadas pelo teste log-rank a 5% de probabilidade. Os inseticidas azadiractina, Bt, lufenuron e teflubenzuron não causaram mortalidade de *T. diatraeae* em 24 horas de contato e, portanto, são seletivos para esse parasitóide. A deltametrina e tiametoxam, e lambda-cialotrina foram pouco tóxicos de acordo com a mortalidade de *T. diatraeae* e o acefato, tóxico, causando 100% de mortalidade desse parasitóide.

**Palavras-chave:** Eulophidae, parasitóide, pesticida.

**CHAPTER IV**  
**SELECTIVITY OF INSECTICIDES USED TO CONTROL SOYBEAN**  
**CATERPILLARS TO THE PUPA PARASITOID *Trichospilus diatraeae***  
**(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE)**

**ABSTRACT**

Insecticide selectivity tests are important to determine the mortality of the beneficial entomofauna. The objective was to evaluate the selectivity of insecticides used in the management of defoliating caterpillars in the soybean culture in Brazil, for females of the pupal parasitoid *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae). Acephate, azadirachtin, *Bacillus thuringiensis* (Bt), deltamethrin, lufenuron, teflubenzuron and thiamethoxam + lambda-cyhalothrin, at the highest concentrations according to the manufacturer's recommendations for the management of *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae) in the soybean culture, were used, being the control with water. The products and water were sprayed on soybean leaves, left to dry naturally, and placed in each cage (glass cylinder 3.50 cm in diameter × 25.00 cm in length) with 10 females of *T. diatraeae*. The data of parasitoid mortality, after 24 hours of exposure, were submitted to analysis of variance (ANOVA) and the means compared using the Tukey HSD test ( $\alpha= 0.05$ ). Survival curves for this natural enemy were prepared between 24 and 120 hours after exposure to the treatments using the Kaplan-Meier method, and the pairs of curves compared using the log-rank test at 5% probability. The insecticides azadirachtin, Bt, lufenuron and teflubenzuron did not cause mortality of *T. diatraeae* in 24 hours of contact and, therefore, are selective for this parasitoid. The toxicity of deltamethrin and thiamethoxam + lambda-cyhalothrin was low according to the mortality of *T. diatraeae* and acephate toxic, causing 100% mortality of this parasitoid.

**Keywords:** Eulophidae, parasitoid, pesticide.

## 1. INTRODUÇÃO

A monocultura da soja (*Glycine max* (L) Merrill) favorece a reprodução e desenvolvimento de insetos pragas, com destaque para lagartas de lepidópteros que se alimentam de folhas, flores e frutos e, conseqüentemente, reduzem a produtividade dessa planta (BORGES et al., 2021).

Inseticidas são o principal método utilizado no manejo de insetos desfolhadores na cultura da soja, com menor custo inicial, fácil aplicação e alta eficiência (MACIEL et al., 2022). O Manejo Integrado de Pragas (MIP) defende o uso combinado de diferentes métodos de controle (NIKOUKAR & RASHED, 2022), incluindo o químico (FARRAR et al., 2018). Produtos seletivos que causem alta mortalidade a pragas e baixo impacto a insetos benéficos devem ser preferidos (BUENO et al., 2017).

Bioinseticidas, como azadiractina e *Bacillus thuringiensis*, com menor dano ao meio ambiente e toxicidade a organismos não-alvo, além de degradação mais rápida, podem complementar o uso de inseticidas sintéticos (AMARO et al., 2015; CHAUDHARY et al., 2017).

O inseticida acefato, do grupo dos inibidores de acetilcolinesterase com mecanismo de ação inibindo a ação de enzimas acetilcolinesterases, aumentando os impulsos nervosos do inseto e acarretando uma hiperexcitação e a morte, é muito utilizado. Azadiractina, um inseticida obtido da planta *Azadirachta indica* A. Juss, é do grupo dos compostos com modo de ação desconhecida ou incerta e utilizado como forma alternativa aos inseticidas sintéticos. *Bacillus thuringiensis*, inseticida biológico do grupo dos disruptores microbianos da membrana do mesêntero, é formado por bactérias que, após ingeridas, liberam cristais que se dissolvem em proteínas tóxicas no intestino dos insetos destruindo a membrana do mesêntero e causando infecção generalizada (septicemia) e a morte do indivíduo. A deltametrina é um inseticida do grupo dos moduladores de canais de sódio com mecanismo de ação das diamidas por liberação descontrolada de cálcio intracelular, causando hiperexcitação, paralisia e morte do inseto. Lufenuron e teflubenzuron são inseticidas do grupo de inibidores da biossíntese de quitina impedindo o crescimento e desenvolvimento do inseto com mecanismo de ação, principalmente, relacionado com o processo de ecdise causando falhas ou acelerando a ecdise. A mistura de thiamethoxam + lambda- cialotrina, o

primeiro um inseticida neonicotinoide do grupo dos moduladores competitivos de receptores nicotínicos da acetilcolina e mecanismo de ação atuando nas células nervosas do inseto imitando a acetilcolina, estimulando as células nervosas, causando hiperexcitação nervosa e morte do inseto (AGROFIT 2022; IRAC 2022).

*Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) foi obtido de pupas de *Diatraea venosata* (Walker, 1863) e descrito no Sul da Índia em 1942 (CHERIAN & MARGABANDHU, 1942). Esse parasitóide é polífago e utilizado em programas de controle biológico na cultura da soja parasitando e se reproduzindo em pupas de lepidópteros pragas (OLIVEIRA et al., 2018), como *Anticarsia gemmatalis* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae) (ANDRADE et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2018), *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1805) (Lepidoptera: Noctuidae) (OLIVEIRA et al., 2016), *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) e *Heliothis virescens* (Fabricius, 1781) (Lepidoptera: Noctuidae) (PARON & BERTI-FILHO, 2000).

A alta taxa de parasitismo em diferentes hospedeiros e a baixa especificidade de *T. diatraeae* permitem sua multiplicação massal (FAVERO et al. 2014). Além disso, este parasitóide pode estar presente, naturalmente, em campo como agente importante em programas de controle biológico aplicado (OLIVEIRA et al. 2018).

Os efeitos de inseticidas em *T. diatraeae* são pouco conhecidos, destacando a necessidade de serem estudados para ações biológicas conservativas e/ou controle inundativo visando aumentar o sucesso do MIP (CARDOSO et al. 2021).

O objetivo do estudo foi avaliar a seletividade de inseticidas, registrado para a cultura da soja, ao parasitóide *Trichospilus diatraeae*.



## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Localização do experimento

Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) (22° 11'56,56" S, 54° 56' 1,396" W) da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA) da Universidade Federal da Grande Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

### 2.2 Semeadura de soja [*Glycine max* (L.) Merrill]

Sementes de soja foram semeadas em vasos de sete litros com 2/3 de solo (Latosolo vermelho distroferico) e 1/3 de matéria orgânica (esterco de galinha), onde as plantas emergidas foram mantidas em casa de vegetação até o estágio fenológico V4 (três trifólios completamente desenvolvidos, ou quatro nós) (Anexo 7).

### 2.3 Sistema ASPECLE

O sistema “Avaliação de Pesticidas Seletividade em Condições de Laboratório Estendido (ASPECLE)” (SANOMIA et al., 2020) foi adaptado da Organização Internacional para o Controle Biológico (IOBC) e padrão para testes de seletividade de inseticidas à parasitóides em laboratório.

As gaiolas utilizadas foram formadas por cilindros de vidro (Borossilicato, Laborglas™, São Paulo, SP, Brasil) (3,50 cm de diâmetro × 25,00 cm de comprimento) vedados com tecido voil e uma tampa plástica nas duas extremidades do cilindro perfurado e com uma mangueira do sistema de ventilação conectada à mesma. Este sistema de ventilação é formado por um tubo central ligado a um compressor/aspirador (Bomba vácuo Dia-Pump Fanem™, São Paulo, SP, Brasil) e a 24 mangueiras (12 do lado esquerdo e 12 do lado direito) onde as gaiolas experimentais de vidro foram acopladas. O sistema de ventilação e a bomba facilitam a troca gasosa nas gaiolas reduzindo o acúmulo de gases tóxicos (Figura 1) (ROCHA & CARVALHO, 2004).

### 2.4 Inseticidas utilizados

Cinco inseticidas químicos e dois bioinseticidas, recomendados para o controle de lagartas desfolhadoras da soja, foram utilizados nas concentrações máximas recomendadas na bula dos mesmos (Quadro 1).

### **2.5 Criação e manutenção de *Trichospilus diatraeae***

Adultos de *T. diatraeae* foram obtidos da criação estoque do LECOBIOOL e mantidos em tubos de vidro (8,5 × 2,5 cm) tampados com algodão e com uma gotícula de mel puro. Cada pupa de *D. saccharalis*, com 24h de idade, foi exposta ao parasitismo por cinco fêmeas de *T. diatraeae* de 48 a 72 horas de idade, durante 24 h a 25 ± 2 °C, umidade relativa (UR) de 70 ± 10% e fotofase de 14 horas em câmara climatizada. Os parasitoides emergidos foram alimentados com gotículas de mel e deixados por 48 a 72 horas para acasalamento. As fêmeas, após o acasalamento, foram separadas e alimentadas para manutenção da criação e/ou realização dos bioensaios (FAVERO et al., 2014).

### **2.6 Exposição de *Trichospilus diatraeae* aos diferentes inseticidas**

Os inseticidas/bioinseticidas foram diluídos em água na concentração máxima indicada na bula do fabricante e pulverizados sobre plantas de soja no estágio fenológico V4 seguindo a metodologia da International Organization for Biological and Integrated Control (IOBC) (HASSAN et al., 2000), com um pulverizador manual de pressão (Brudden Pratical 2000®) (Anexo 8). Os produtos foram aplicados até o escorrimento foliar nas plantas e estas deixadas para secar a sombra em ambiente aberto. As plantas de soja foram coletadas e separadas por tratamento e levadas para laboratório, onde cinco folhas, dessa planta, foram colocadas por gaiola. Dez fêmeas de *T. diatraeae*, com 48 horas de idade e alimentadas, foram colocadas no interior de cada gaiola (Anexo 9) com um pedaço de algodão umedecido com água.

### **2.7 Mortalidade de *Trichospilus diatraeae***

Dez fêmeas de *T. diatraeae* com 48 horas, acasaladas e alimentadas, foram colocadas por gaiola totalizando 120 fêmeas por tratamento. O número de indivíduos mortos foi contabilizado após 24 horas por tratamento.

Os inseticidas foram classificados de acordo com as normas do IOBC, utilizando os dados de mortalidade em 24 horas, em laboratório: Classe 1– inócuo

(<30%); Classe 2– pouco nocivo (30–79%); Classe 3– moderadamente nocivo (80–99%); e Classe 4– nocivo (>99%) (STERK et al., 1999).

Os dados de mortalidade de *T. diatraeae*, após 24 horas de exposição, foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas utilizando o teste de Tukey HSD ( $\alpha= 0.05$ ) com o programa estatístico SASM-AGRI (CANTERI et al., 2001).

## **2.8 Sobrevivência de *Trichospilus diatraeae***

Dez fêmeas de *T. diatraeae* com 48 horas de idade, acasaladas e alimentadas, foram colocadas por gaiola totalizando 120 fêmeas, com doze repetições, por tratamento. O experimento durou 120 horas e o número de indivíduos vivos foi contado, diariamente, a cada avaliação. Os parasitoides imóveis foram tocados com um pincel e considerados mortos se continuassem imóveis.

Os valores foram submetidos ao Proc LIFETEST do SAS (SAS Institute 2001) para estimar as médias de sobrevivência, as quais foram comparadas por pares utilizando o teste de Log-Rank ( $\alpha= 0,05$ ). Os dados de sobrevivência foram utilizados para construir as curvas de sobrevivência de *T. diatraeae* utilizando o método Kaplan-Meier com o programa Sigma Plot 10.0.

### 3. RESULTADOS

A mortalidade de *T. diatraeae*, nas primeiras 24 horas, foi nula com os inseticidas azadiractina, *Bacillus thuringiensis*, lufenuron, teflubenzurom, e no controle e de 100,00%, 41,67% e 60,00% com os inseticidas acefato, deltametrina e tiametoxam + lambda – cialotrina, respectivamente (Quadro 2).

A sobrevivência do parasitoide *T. diatraeae* variou ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos ( $\chi^2 = 953,86$ ; GL= 7;  $P < 0,0001$ ) (Figura 2) com valores, entre 24 a 120 horas de  $0 \pm 0$ ;  $114,55 \pm 1,40$ ;  $112,60 \pm 1,81$ ;  $67,80 \pm 3,85$ ;  $115,38 \pm 1,62$ ;  $118,78 \pm 0,65$ ;  $36,80 \pm 1,63$  e  $115,16 \pm 1,43$  horas para os inseticidas acefato, azadiractina, *Bacillus thuringiensis*, deltametrina, lufenuron, teflubenzuron, tiametoxan + lambda – cialotrina e controle, respectivamente (Figura 3).

A sobrevivência, após 120 horas, de *T. diatraeae* foi de 72,0%, 66,0%, 69,0%, 77,5%, 80,0%, 20,0%, 0,0% e 0,0 no controle, *Bacillus thuringiensis* (BT), azadiractina, lufenuron, teflubenzuron, deltametrina, tiametoxam +lambda-cialotrina e acefato, respectivamente (Figura 2).

#### 4. DISCUSSÃO

A falta de mortalidade de fêmeas de *T. diatraeae*, em 24 horas, pela azadiractina, classifica esse inseticida como não tóxico a esse parasitoide (STERK et al. 1999). A azadiractina é um tetranortriterpenóide e com seus derivados, utilizado no manejo de pragas agrícolas como repelente, antialimentar e interferindo no desenvolvimento das gônadas sexuais femininas reduzindo ou impedindo a oviposição (MORGAN, 2009; CHAUDHARY et al., 2017). Além disso, a ausência de mortalidade de *T. diatraeae* pode estar relacionada à forma de contaminação pela azadiractina que age, principalmente, por ingestão (CARDOSO et al., 2021) e o parasitoide só teve contato com resíduos deste inseticida nas folhas de soja. De forma semelhante, a mortalidade zero de fêmeas de *T. diatraeae* com o *Bacillus thuringiensis* kurstaki classifica esse inseticida como não tóxico (STERK et al. 1999). Essa bactéria é um bioinseticida específico para lagartas de Lepidoptera e, após ingerida, libera suas toxinas que se ligam em receptores na parede do intestino rompendo a mesma e causando septicemia (NASCIMENTO et al., 2018). A sobrevivência de *T. diatraeae* se deve à elevada especificidade das toxinas do *B. thuringiensis* var. kurstaki para lepidópteros e, também, por ser improvável a ingestão de resíduos secos dessa bactéria pulverizada sobre as folhas de soja (AMARO et al., 2015). A mortalidade zero de fêmeas de *T. diatraeae*, em 24 horas, classifica os inseticidas lufenuron e teflubenzurom, do grupo benzoilureia, como não tóxicos para esse parasitoide (STERK et al. 1999). Esses inseticidas não afetam insetos adultos por serem reguladores de crescimento inibindo a síntese de quitina (SOUZA et al., 2018). Isto é semelhante ao relatado para os inseticidas lufenuron e novaluron, do mesmo grupo e, também, específicos para larvas e ninfas de insetos, com o parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead, 1905) (Hymenoptera: Braconidae) (PAZINI et al., 2017; CARDOSO et al., 2021). A morte de 100% das fêmeas de *T. diatraeae*, após 24 horas, com acefato, classifica esse inseticida como tóxico (STERK et al., 1999). Esse inseticida, como outros organofosforados, inibe a acetilcolinesterase (AChE) no sistema nervoso causando paralisia e morte de insetos (SCHLESENER et al., 2019), semelhante na relatado para o parasitoide *Palmistichus elaeisis* Delvare & La Salle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) com o inseticida malathion (CRUZ et al., 2017). A mortalidade de fêmeas de *T. diatraeae* pela deltametrina e tiametoxam + lambda-

cialotrina em 24 horas, classifica esses inseticidas com, levemente, tóxicos (STERK et al., 1999). Esses inseticidas, dos grupos piretroide e neonicotinoide agem mantendo os canais de sódio abertos causando hiperexcitação e bloqueando o sistema nervoso do inseto e ou se ligam à acetilcolina (ACh) transformando-a em nAChRs causando diferentes sintomas, incluindo hiperexcitação, letargia e paralisia, respectivamente (PANIZI et al., 2017). Piretroides e neonicotinoides atuam no sistema nervoso e na respiração em todas as fases de desenvolvimento do inseto (BARROS et al., 2018; SCHLESENER et al., 2019).

A maior sobrevivência do parasitoide *T. diatraeae* até 24 horas com os inseticidas confirma a segurança para inimigos naturais, após exposição aos mesmos (LIU et al., 2022). Acefato é um organofosforado, grupo com compostos inseticidas, geralmente com largo espectro, baixa seletividade causando elevada mortalidade de inimigos naturais, como parasitoides (PAIVA et al., 2018). Inseticidas botânicos como azadiractina são considerados como seguros para inimigos naturais, não causando mortalidade significativa dos parasitoides *Trichogramma nubilale* Ertle & Davis, 1975 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *Trichospilus pupivorus* Ferrière, 1930 (Hymenoptera: Eulophidae) (CHEN et al., 2013; SILVA et al., 2020). *Bacillus thuringiensis* mesmo ingerido, não causou mortalidade ou reduziu a sobrevivência do parasitoide *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae), (AMARO et al., 2015). A baixa mortalidade de *T. diatraeae* e a redução da sobrevivência desse parasitóide até 120 horas com deltametrina confirmam efeitos letais de seus resíduos (COSTA et al., 2020). Isto é semelhante ao relatado para *Trichopria anastrephae* Lima, 1940 (Hymenoptera: Diapriidae) com sobrevivência de 10% após 120 horas de exposição à esse inseticida e de *Pachycrepoides vindemmiae* (RONDANI, 1875) (Hymenoptera: Pteromalidae) com 100% de mortalidade (SCHLESENER et al., 2019). No entanto, a deltametrina não reduziu a sobrevivência de *Palmistichus elaeisis* (Delvare e LaSalle, 1993) (Hymenoptera: Eulophidae) (COSTA et al., 2020).

O lufenuron e teflubenzuron, do grupo benzoiluréia, são reguladores de crescimento em insetos e não afetam a sobrevivência de inimigos naturais adultos (LIU et al., 2022). A reduzida sobrevivência de *T. diatraeae* com o tiametoxam+ lambda-cialotrina se deve a toxicidade desses inseticidas como relatado para *Telenomus podisi* Ashmead, 1893 (Hymenoptera: Platygastriidae), com mortalidade total de seus

indivíduos a partir do contato direto com resíduos desse inseticida no substrato (TURCHEN et al., 2016).

A alta sobrevivência de *T. diatraeae*, após 120 horas, com o BT, azadiractina, lufenuron e teflubenzuron, pode ser devido ao modo de ação desses inseticidas e ao comportamento desse parasitoide (POTIN et al., 2021) pois o BT é mais específico para um grupo de insetos e os lufenuron e teflubenzuron agem, apenas, nas fases jovens do inseto (CHAUDHARY et al., 2017; NASCIMENTO et al., 2018; SOUZA et al., 2018). Ao final das 120 horas a mortalidade, nestes tratamentos, pode estar relacionada aquela natural deste parasitoide, com longevidade média de  $8,28 \pm 1,01$  dias (FAVERO et al., 2014). A morte de todos os parasitoides com o inseticida acefato em 24 horas confirma a elevada toxicidade deste inseticida (CARDOSO et al., 2021). Além disso, a menor sobrevivência, com os inseticidas deltametrina e tiametoxam + lambda-cialotrina se deve a persistência de seus resíduos secos nas folhas e o contato direto do parasitoide aumentando sua mortalidade no decorrer dos dias (PANIZI et al., 2017; COSTA et al., 2022).

Inseticidas inócuos são aqueles usados, concomitante a *T. diatraeae* pois as condições de contato mais extremo entre o inseticida e o parasitoide foram avaliadas. Inseticidas não devem ser aplicados quando ao mesmo tempo que se faz a soltura do parasitoide. Testes em campo devem ser realizados onde o impacto de inseticidas deve ser menor devido a degradação natural ou ao menor contato do parasitoide com os mesmos. Isto permitirá se formular um MIP com a utilização de *T. diatraeae* com outras formas de controle de pragas, inclusive inseticidas.

## 5. CONCLUSÕES

*Bacillus thuringiensis*, azadiractina, lufenuron e teflubenzuron foram considerados inócuos, a deltametrina e o tiametoxam + lambda-cialotrina pouco tóxico e o acefato tóxico para o parasitoide *T. diatraeae* nas condições avaliadas.

Impactos subletais não foram determinados e, por isso, testes adicionais com esses produtos químicos devem ser realizados para se avaliar seu efeito na longevidade, fecundidade, comportamento de acasalamento e forrageamento desse parasitóide antes de sua inclusão em programas de MIP.



## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROFIT: Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. 2022. Disponível em: [http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em : 31 mar. 2022.

AMARO, J. T.; Bueno, A. F.; Pomari-Fernandes, A. F.; Neves, P. M. O. J. Selectivity of organic products to *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Neotropical Entomology**, v. 44, p. 489–497, 2015.

ANDRADE, G. S.; Serrão, J. E.; Zanuncio, J. C.; Zanuncio, T. V.; Leite, G. L. D. L.; Polanczyk, R. A. Immunity of an alternative host can be overcome by higher densities of its parasitoids *Palmistichus elaeisis* and *Trichospilus diatraeae*. **PLoS ONE**, v. 05, n:e13231. 2010. Doi: 10.1371/journal.pone.0013231.

BARROS, E. M.; Silva-Torres, C. S. A.; Torres, J. B.; Rolin, G.G.; Short-term toxicity of insecticides residues to key predators and parasitoids of pest management in cotton. **Phytoparasitica**, v. 46, n. 01 p.391–404. 2018.

BORGES, F. S. P., Loureiro, E. S.; Jaurretche, J. E.; Pessoa, L. G. A.; Arruda, L. A.; Dias, P. M.; Navarrete, A. A. Performance of phytosanitary products for control of soybean caterpillar. **Anais Academia Brasileira de Ciências**, v. 93, n. 04, e20200205. 2021. doi: 10.1590/0001-3765202120200205

BUENO, A. F.; Carvalho, G. A.; Santos, A. C.; Sosa-Gómez, D. R.; Silva, D. M. Pesticide selectivity to natural enemies: challenges and constraints for research and field recommendation. **Ciência Rural**, v. 47, n. 06, e20160829. 2017. doi: 10.1590/0103-8478cr20160829

CANTERI, M. G.; Althaus, R. A.; Virgens Filho, J. S.; Giglioti, E. A.; Godoy, C. V. Sasmagri: sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott-Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v. 01, n. 02, p. 8–24. 2001.

CARDOSO T. D. N., Stupp, P.; Rakes, M.; Martins, M. B.; Filho, J. G. S.; Grützmacher, A. D.; Nava, D. E.; Bernardi, D.; Botton, M. Lethal and sublethal toxicity of pesticides used in fruit growing on the parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae): implications for integrated fruit fly management. **Journal of Economic Entomology**, v. 114, n. 06, p. 2412–2420. 2021.

CHAUDHARY, S.; Kanwar, R. K.; Sehgal, A.; Cahill, D. M.; Barrow, C. J.; Sehgal, R.; Kanwar, J. R. Progress on *Azadirachta indica* based biopesticides in replacing synthetic toxic pesticides. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n.610. 2017.

CHEN, X.; Song, M.; Oi, S.; Wang, C. Safety evaluation of eleven insecticides to *Trichogramma nubilale* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), **Journal of Economic Entomology**, v. 106, n. 01, p. 136–141. 2013. DOI: 10.1093/jee/106.1.136

CHERIAN M. C.; Margabandhu, V. A new species of *Trichospilus* (Hymenoptera: Chalcidoidea) from south India. **Indian Journal of Entomology**, v. 4, n. 02, p. 101–102. 1942.

COSTA, E. S. P.; Soares, M. A.; Caldeira, Z. V.; Veloso, R. V. S.; Silva, L. A.; Silva, D. J. H.; Santos, I. C. L.; Castro, B. M. C.; Zanuncio, J. C.; Legaspi, J. C. Selectivity of deltamethrin doses on *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Scientific Reports**, n. 10, e12395. 2020. Doi: 10.1038/s41598-020-69200-x

COSTA, M. A.; Farias, E. S.; Passos, L. C.; Carvalho, V. C.; Carvalho, G. A. Side effects of insecticides applied to cotton on adult *Trichogramma pretiosum* by three exposure routes. **Pest Management Science**, v. 78, n. 05, p. 1895–1902. 2022. doi: 10.1002/ps.6807.

Cruz, R. A., Zanuncio, J. C.; Lacerda, M. C.; Wilcken, C. F.; Fernandes, F. L.; Tavares, W. S.; Soares, M. A.; Sedyama, C. S. Side-effects of pesticides on the generalist endoparasitoid *Palmistichus elais* (Hymenoptera: Eulophidae). **Scientific Reports**, v. 07, e10064. 2017. doi: 10.1038/s41598-017-10462-3

FARRAR, J. J.; Ellsworth, P. C.; Sisco, R.; Baur, M. E.; Crump, A.; Fournier, A. I. J.; Murray, M. K.; Jepson, P. C.; Tarutani, C. M.; Dorschner, K. W. Assessing compatibility of a pesticide in an IPM program. **Journal of Integrated Pest Management**, v.09, n.01. 2018.

FAVERO, K.; Pereira, F. F.; Kassab, S. O.; Costa, D. P.; Zanuncio, J. C. Life and fertility tables of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) with *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) pupae. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 107, n. 03, p. 621–626. 2014.

HASSAN, S. A.; Halsall, N.; Gray, A. P.; Kuehner, C.; Moll, M.; Bakker, F.; Roembke, J.; Yousef, A.; Nasr, F.; and Abdelgader, H. A laboratory method to evaluate the side effects of plant protection products on *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hymenoptera: Trichogrammatidae): 107–119. In Candolfi M. P. *et al.* (eds) Guidelines to evaluate sideeffects of plant protection products to non-target arthropods. **IOBC/WPRS**, Reinheim. 2000.

LIU, Z.; Su, H.; Lyu, B.; Yan, S.; Lu, H.; Tang, J. Safety evaluation of chemical insecticides to *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae), a pupal parasitoid of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) using three exposure routes. **Insects**, v. 13, n. 05, p. 443. 2022. Doi: 10.3390/insects 13050443

MACIEL, R.M.A.; Amaro, J. T.; Colombo, F. C.; Neves, P. M. O. J.; Bueno, A. F. Mixture compatibility of *Anticarsia gemmatalis* nucleopolyhedrovirus (AgMNPV) with pesticides used in soybean. **Ciência Rural**, v. 52, n. 02, e20210027. 2022. doi: 10.1590/0103-8478cr20210027

MORGAN, E. D. Azadirachtin, a scientific gold mine. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 12, p. 4096–4105. 2009.

NASCIMENTO, P. T.; Fadini, M. A. M.; Valicente, F. H.; Ribeiro, P. E. A. Does *Bacillus thuringiensis* have adverse effects on the host egg location by parasitoid wasps? **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 62, p. 260–266. 2018.

NIKOUKAR, A.; Rashed, A. Integrated pest management of Wireworms (Coleoptera: Elateridae) and the rhizosphere in agroecosystems. **Insects**, v. 13, n. 09, 2022.

OLIVEIRA, F. A. L. D.; Silva, R. O.; Oliveira, N. R. X. D.; Andrade, G. S.; Pereira, F. F.; Zanuncio, J. C.; Coutinho, C. R.; Pastori, P. L. Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) with different densities and parasitism periods in *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) pupae. **Folia Biologica–Prague**, v. 66, n. 03, p. 103–110. 2018.

OLIVEIRA, H. N.; Simonato, J.; Glaser, D. F.; Pereira, F. F. Parasitism of *Helicoverpa armigera* pupae (Lepidoptera: Noctuidae) by *Tetrastichus howardi* and *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 01, p. 111–115. 2016.

PAIVA, A. C. R.; Beloti, V. H.; Yamamoto, P. T. Sublethal effects of insecticides used in soybean on the parasitoid *Trichogramma pretiosum*. **Ecotoxicology**, v. 27, n. 04, p. 448–456. 2018.

PARON, M. R.; Berti-Filho, E. Reproductive capacity of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) on different host pupae (Lepidoptera). **Scientia Agricola**, v. 57, n. 02, p. 355–358. 2000.

PAZINI, J. B.; Pasini, R. A.; Seidel, E. J.; Rakes, M.; Martins, J. F. D. S.; Grutzmacher, A. D. Side-effects of pesticides used in irrigated rice areas on *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Platygasteridae). **Ecotoxicology**, v. 26, n.06, p. 782–791. 2017.

POTIN, D. M., Machado, A. V. A.; Barbosa, P. R. R.; Torres, J. B. Multiple factors mediate insecticide toxicity to a key predator for cotton insect pest management. **Ecotoxicology**, v. 31, n.03, p. 490-502. 2022.

ROCHA, L. C. D.; Carvalho, G. A. Adaptação da metodologia padrão da IOBC para estudos de seletividade com *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em condições de laboratório. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 26, n.03, p. 315–320. 2004.

SANOMIA, W. Y.; Pereira, F. F.; Silva, I. F. Insecticide selectivity to *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) under extended laboratory conditions. **Pesquisa Agropecuaria Tropical**, v. 50, n. 01, p. 1-8, 2020.

SAS Institute. SAS User`s guide: statistic version 8,02. SAS Institute, Cary, NC. 2001.

SCHLESENER, D. C. H.; Wolmann, J.; Pazini, J. B.; Padilha, A. C.; Grützmacher, A. D.; Garcia, F. R. M. Insecticide Toxicity to *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) parasitoids: *Trichopria anastrephae* (Hymenoptera: Diapriidae) and *Pachycrepoideus*

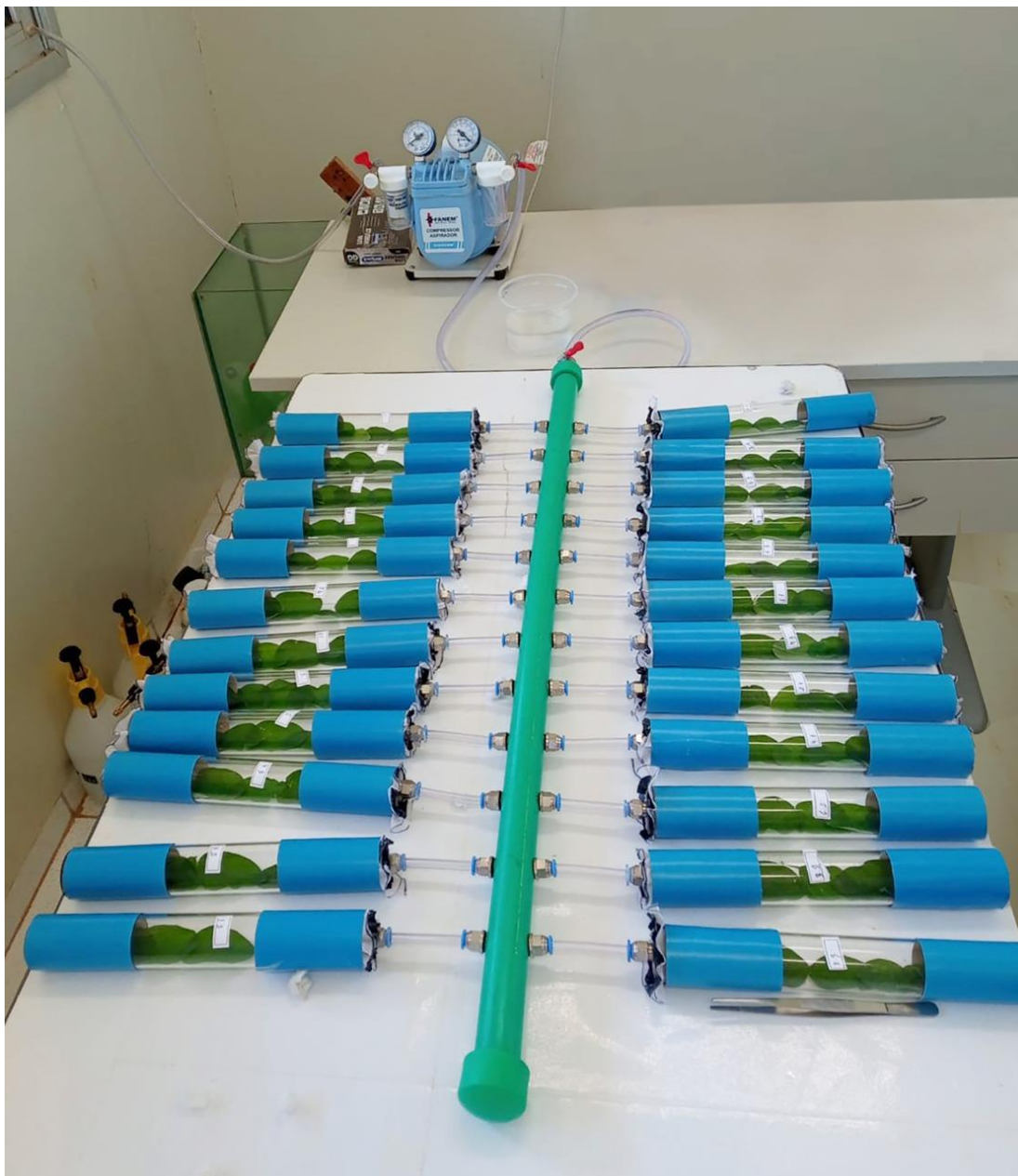
*vindemmiae* (Hymenoptera: Pteromalidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 112, n. 03, p. 1197–1206. 2019.

SILVA, I. M.; Soares, M. A.; Tavares, W. S.; Santos, A.; Serrão, J. E.; Zanuncio, A. J. V.; Wilcken, C. F.; Zanuncio, J. C.; Sedyama, C. S. Toxicity of essential oils to *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae) e selectivity to its parasitoid *Trichospilus pupivorus* (Hymenoptera: Eulophidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 113, n. 05, p. 2399–2406. 2020.

SOUZA, D.; Monteiro, A. B.; Faria, L. D. B. Morphometry, allometry, and fluctuating asymmetry of egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* under insecticide influence. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 166, n. 04, p. 298–303. 2018.

STERK, G.; Hassan, A. S.; Baillod, M.; Bakker, F.; Bigler, F.; Blümel, S.; Bogenschütz, H.; Boller, E.; Bromand, B.; Brun, J.; Calis, J. N. M.; Coremans-Pelseneer, J.; Duso, C.; Garrido, A.; Grove, A.; Heimbach, U.; Hokkanen, H.; Jacas, J.; Lewis, G.; Moreth, L.; Polgar, L.; Roversti, L.; Samsoe-Petersen, L.; Sauphanor, B.; Schaub, L.; Stäubli, A.; Tuset, J. J.; Vainio, A.; Van de Veire, M.; Viggiani, G.; Viñuela, E.; Vogt, H. Results of the seventh joint pesticide testing programme carried out by the IOBC/ WPRS– Working Group “Pesticides and Beneficial Organisms”. **BioControl**, v. 44, n. 01, p. 99–117. 1999.

TURCHEN, L. M., Golin, V.; Butnariu, A. R.; Guedes, R. N. C.; Pereira, M. J. B. Lethal and sublethal effects of insecticides on the egg parasitoid *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygasteridae). **Journal of Economic Entomology**, v. 109, n. 01, p. 84–92. 2016.



**Figura 1:** Sistema Avaliação de Pesticidas Seletividade em Condições de Laboratório Estendido (ASPECLE).

**Quadro 1.** Ingredientes ativos (I.As), nomes comerciais (NM), grupo químico, produto comercial (PC), concentração de ingrediente ativo (I.A.) e classificação toxicológica (CT) dos inseticidas acefato, azadiractina, *Bacillus thuringiensis* (B.t.), deltametrina, lufenuron, teflubenzurom (Teflub.) e tiametoxam + lambda-cialotrina (T. + Lc) recomendados para o controle de lagartas desfolhadoras na cultura da soja (AGROFIT, 2022)

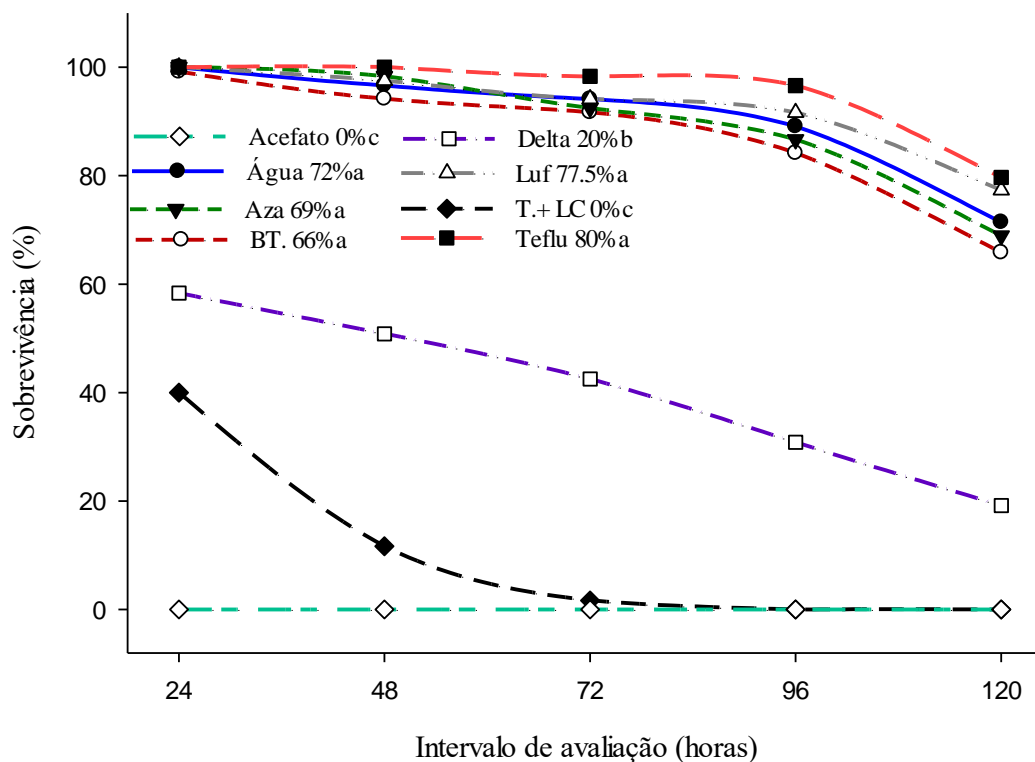
I.As.	N.C.	Grupo químico	PC <sup>1</sup>	IA <sup>2</sup>	CT <sup>3</sup>
Acefato	Acefato Nortox <sup>®</sup>	Organofosforado	667	450	IV
Azadiractina	Neem Citromax <sup>®</sup>	Tetranortriterpenoide	2000	2,4	IV
B.t.	Dipel WP <sup>®</sup>	Microbiológico	500	16	V
Deltametrina	Decis 25 EC	Piretróide	400	16	IV
Lufenuron	MATCH <sup>®</sup> EC	Benzoiluréia	374	18,7	V
Teflub.	Nomolt <sup>®</sup> 150	Benzoilureia	200	30	IV
T. + Lc.	Engeo Pleno <sup>™</sup> S	Neo*. + Piretróide	200	28,2+	IV
				21,2	

<sup>1</sup>PC: Produto comercial em g ou ml por 200 L ha<sup>-1</sup>. <sup>2</sup>IA: Ingrediente ativo em g ou ml por 200 L ha<sup>-1</sup>, <sup>3</sup>CT: Classe toxicológica (I: extremamente tóxico; II: altamente tóxico; III: moderadamente tóxico; IV: pouco tóxico; V: produto improvável de causar dano agudo). \*Neo. (Neonicotinoide)

**Quadro 2.** Porcentagem de mortalidade (média  $\pm$  erro padrão) e classe de toxicidade (CT) para fêmeas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em teste de seletividade de acordo com a Organização Internacional para Controle Biológico (IOBC) em diferentes inseticidas (Tratamentos)

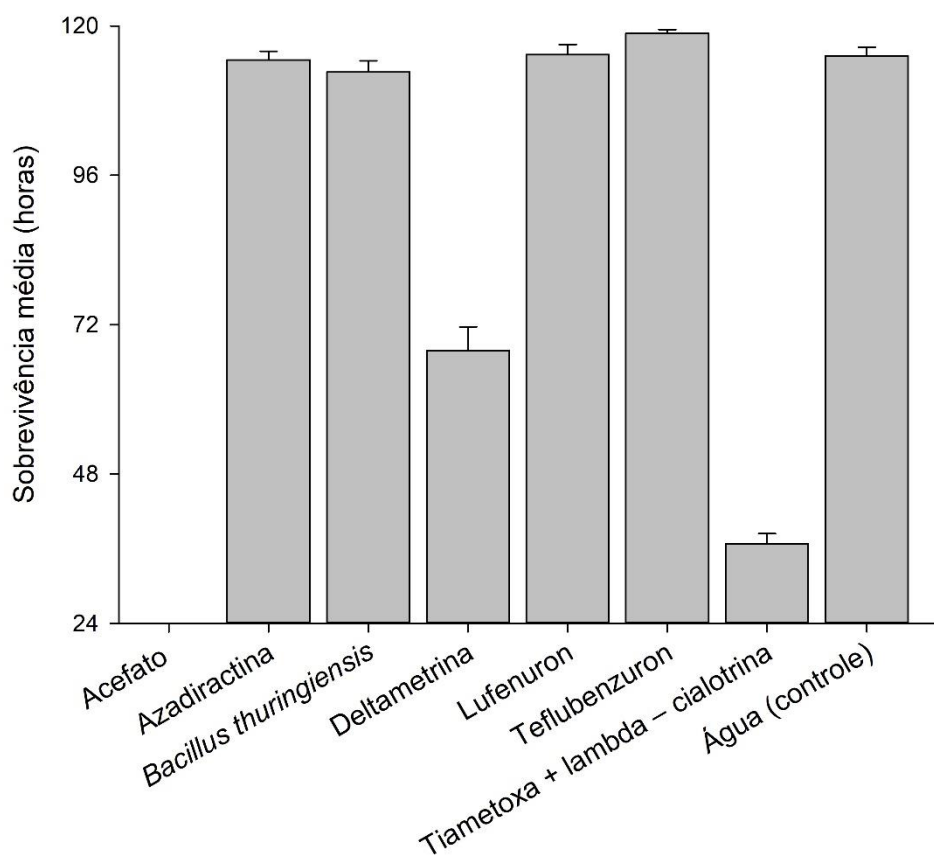
Tratamentos	Mortalidade (%)	CT
Acefato	100.00 $\pm$ 0.00a	4
Azadiractina	0.00 $\pm$ 0.00d	1
<i>Bacillus thuringiensis</i>	0.00 $\pm$ 0.00d	1
Controle	0.00 $\pm$ 0.00d	1
Deltametrina	41.67 $\pm$ 4.50c	2
Lufenuron	0.00 $\pm$ 0.00d	1
Teflubenzurom	0.00 $\pm$ 0.00d	1
Tiametoxam + Lambda-cialotrina	60.00 $\pm$ 4.47b	2

\*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Classes 1– inócuo (<30%); 2– levemente tóxico (30–79%); 3– moderadamente tóxico (80–99%); 4– tóxico (>99%) (Sterk et al. 1999).



**Figura 02.** Sobrevivência, até 120 horas, de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) após exposição aos inseticidas, acefato (Acefato), azadiractina (Aza), *Bacillus thuringiensis* (BT), deltametrina (Delta), lufenuron (Luf), teflubenzuron (Teflu), tiametoxam +lambda-cialotrina (T. + LC) e o controle (Água). Pares de comparações entre curvas de sobrevivência estimadas pelo método Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank ( $P < 0,05$ )





**Figura 03.** Sobrevivência em horas (Média + EP) de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) entre 24 e 120 horas de exposição aos inseticidas.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos aumentam o conhecimento sobre o desenvolvimento e reprodução de *Trichospilus diatraeae*. Sendo inéditos e relacionados ao parasitismo de pupas de *C. includens* por fêmeas de *T. diatraeae*.

O período de 24 horas de contato do parasitoide com pupas hospedeiras não é suficiente e outros mais prolongados não afetam as características biológicas de *T. diatraeae*. Isto é importante em criações por diminuir o tempo gasto com a manipulação e criação de *T. diatraeae*. Este parasitoide, em condições de campo, tem mais que 24 horas, para encontrar, parasitar e se desenvolver em pupas de *C. includens* após liberado.

A idade da pupa de *C. includens* afetou o desenvolvimento de *T. diatraeae*, sendo recomendada a utilização daquelas com, até, 96 horas de idade.

Pupas de *C. includens* podem ser armazenadas em baixa temperatura sem alteração dos parâmetros biológicos até o 15º dia e, depois desta data, a emergência do parasitoide fica comprometida.

Os inseticidas *Bacillus thuringiensis*, azadiractina, lufenuron e teflubenzuron foram inócuos a *T. diatraeae*, podendo ser utilizados no manejo biológico integrado de *C. includens*.

Os resultados obtidos são importantes e contribuem para o aprimoramento da multiplicação visando à obtenção parasitoide de *T. diatraeae* com qualidade para estudos científicos ou criação em larga escala visando sua utilização em programas de controle biológico, principalmente, de *C. includens*.

## ANEXOS



**Anexo 1:** *Trichospilus diatraeae* sobre uma pupa de *Chrysodeixis includens*.



**Anexo 2:** *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) sobre (A) e parasitando pupa de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae).



*Trichospilus diatraeae* ♂



*Trichospilus diatraeae* ♀



**Anexo 3:** Dimorfismo sexual de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae)  
 Diferença entre machos e fêmeas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae). 1.A: Fêmeas com olhos em formato riniforme de coloração vermelho vivo, mandíbulas desenvolvidas. 2. A: Macho com olhos em formato arredondado de coloração vinho e mandíbula pouco desenvolvida. 1.B: Fêmea com inserção das antenas a partir do mesmo ponto. 2.B: macho com inserção das antenas a partir de dois pontos.

**Anexo 4:** Composição da dieta artificial para manutenção das lagartas de *Chrysodeixis includes* (Lepidoptera: Noctuidae) (Adaptada de GRENNE et al., 1976).

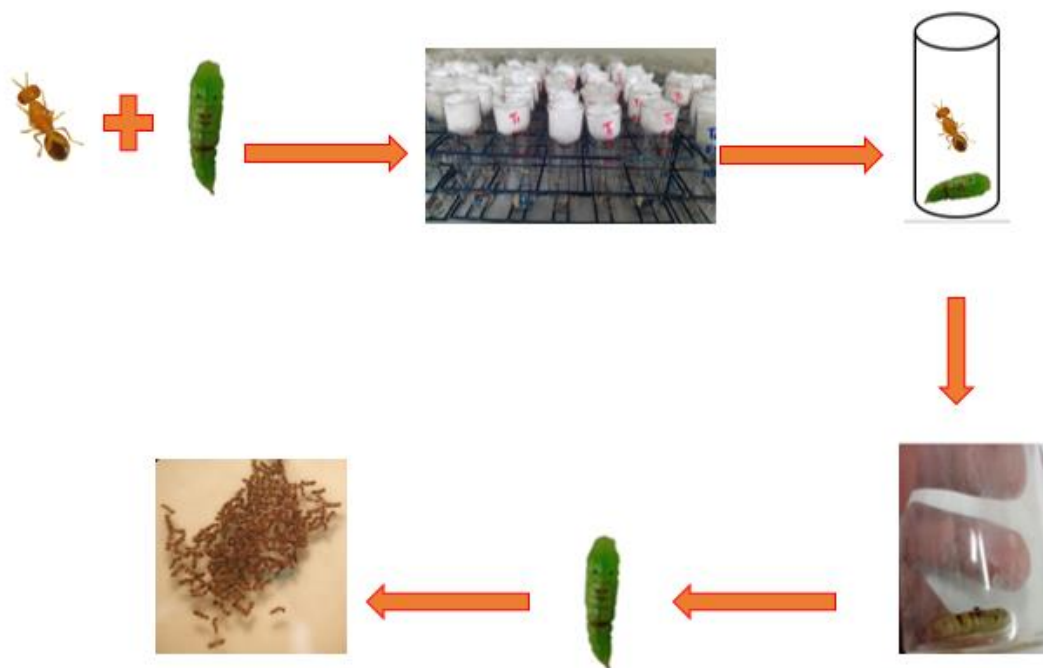
Composição da dieta artificial para manutenção das lagartas de <i>Chrysodeixis includes</i> (Lepidoptera: Noctuidae)	
Ingredientes	Quantidade (g / mL)
Germe de trigo	45,00 g
Levedura	28,15 g
Proteína de soja	22,50 g
Caseína	22,50 g
Ácido Sórbico	1,35 g
Ácido Ascórbico	2,70 g
Metil parahidroxibenzoato (nipagin)	2,25 g
Tetraciclina	0,09 g
Agar	17,50 g
Feijão (carioca ou tipo branco)	56,25 g
Solução vitamínica*	7,0 mL
Formaldeído	2,7 mL
Água destilada	900 mL

\*Composição da mistura vitamínica de Vanderzant

Niacianamida	1,000 mg
Pantotenado de cálcio	1,000 mg
Tiamina HCl	0,250 mg
Riboflavina	0,500 mg
Piridoxina HCl	0,250 mg
Ácido fólico	0,250 mg
Biotina	0,250 mg
Vitamina B12	0,250 mg



**Anexo 5:** Pupas de 24 horas foram pesadas e separadas em grupos com 50 pupas e colocadas em placas de Petri. Essas placas foram acondicionadas em uma caixa de isopor na parte inferior da geladeira, por zero, cinco, 10, 15, 20, 25 e 30 dias. A temperatura e umidade foram medidas usando termo higrômetro digital.



**Anexo 6:** Uma pupa do tratamento (sem armazenamento, ou armazenada a 5, 10, 15, 20, 25 ou 30 dias), mais uma fêmea de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) foram adicionadas em tubos de vidros. Depois de 24 horas o parasitoide foi retirado, e a pupa hospedeira mantida no tubo até a emergência dos parasitoides. No total foram 50 pupas e 50 parasitoides fêmeas por tratamento





**Anexo 7:** Vaso com plantas de soja no estágio fenológico V4.



**Anexo 8:** Pulverizadores manuais de pressão, com os tratamentos de inseticidas e tratamento com água.





**Anexo 9:** Fêmeas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) sobre folhas de soja, dentro da gaiola do sistema ASPECLE.