

Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais - FCBA
Programa de Pós-Graduação em
Entomologia e Conservação da Biodiversidade – PPGECB

PARASITISMO E DESENVOLVIMENTO DE *Tetrastichus howardi*
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EM LAGARTAS E PUPAS DE
Diatraea flavipennella (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

Augusto Rodrigues

Dourados-MS

Abril de 2019

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

Augusto Rodrigues

PARASITISMO E DESENVOLVIMENTO DE *Tetrastichus howardi*
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EM LAGARTAS E PUPAS DE
Diatraea flavipennella (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

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

Orientador: Dr. Fabricio Fagundes Pereira

Co-orientadora: Dra. Christian Sherley Araújo da Silva Torres

Dourados-MS

Abril de 2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

R696p Rodrigues, Augusto

PARASITISMO E DESENVOLVIMENTO DE *Tetrastichus howardi* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EM LAGARTAS E PUPAS DE *Diatraea flavipennella* (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) [recurso eletrônico] / Augusto Rodrigues. -- 2019.

Arquivo em formato pdf.

Orientador: Fabricio Fagundes Pereira .

Coorientadora: Christian Sherley Araújo da Silva Torres .

Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2019.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

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

1. Controle Biológico. 2. Endoparasitoide. 3. Pragas da cana-de-açúcar. I. Pereira, Fabricio Fagundes. II. Torres, Christian Sherley Araújo Da Silva. III. Título.

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

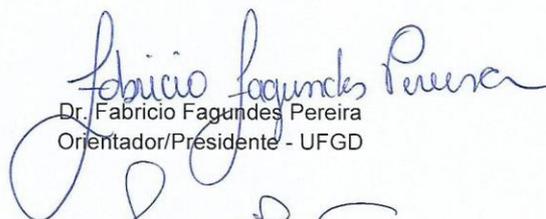
©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

“PARASITISMO E DESENVOLVIMENTO DE *Tetrastichus howardi* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EM LAGARTAS E PUPAS DE *Diatraea flavipennella* (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)”.

Por

AUGUSTO RODRIGUES

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



Dr. Fabricio Fagundes Pereira
Orientador/Presidente - UFGD



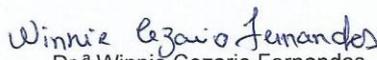
Dr. Jorge Braz Torres
Membro titular - UFRPE



Dr. Harley Nonato de Oliveira
Membro titular - Embrapa



Dr. Samir Oliveira Kassab
Membro titular - Legado Pesquisa e Consultoria



Dr.^a Winnie Cezario Fernandes
Membro titular

Aprovada em: 15 de abril de 2019

BIOGRAFIA

Augusto Rodrigues, filho de Ramona Veron Rodrigues, natural de Ponta Porã, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil, nascido em 12 de setembro de 1994.

Estudou o Ensino Fundamental na Escola Municipal Osvaldo de Almeida Matos e o Ensino Médio na Escola Estadual Joaquim Murtinho, finalizando em 2012. Em 2013 ingressou no Curso de Ciências Biológicas na Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. Durante os anos de graduação foi bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC), onde teve os primeiros contatos científicos com a Entomologia, especificamente Controle Biológico.

Em Abril de 2017, iniciou o Curso de Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade pela UFGD. E em 2018 foi aluno do Programa Nacional de Cooperação Acadêmica (PROCAD), na Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, Pernambuco, Brasil. Submeteu a defesa de sua Dissertação em Abril de 2019.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a DEUS pela vida e pelas conquistas.

A Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) ao Programa de Pós-graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade (PPGECB), assim, como a Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e ao Programa de Pós-graduação em Entomologia Agrícola (PPGEA).

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro para conduzir as pesquisas.

Ao Programa Nacional de Cooperação Acadêmica (PROCAD).

A Associação de Plantadores de Cana da Paraíba (ASPLAN) pelo fornecimento das lagartas e pupas de *D. saccharalis*.

As Usinas Olho d'Água e São José - PE pelo fornecimento das lagartas para a o estabelecimento da criação em laboratório.

A minha mãe, irmãos e avós, por todo incentivo e conselhos para não desistir dos meus objetivos.

Aos meus orientadores Fabricio Fagundes Pereira (UFGD) e Christian Sherley Araújo da Silva Torres (UFRPE), pelos ensinamentos e exemplo de profissionalismo. Serei sempre grato!

Aos meus amigos do Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL), que me deram a honra do convívio em especial Winnie Fernandes e Samir Kassab pela amizade e companheirismo, além dos conhecimentos compartilhados. Agradeço também aos demais Débora, Alex, Thâmila, Júlio, Élisson, Willian, Carlos e Flávio pela companhia e momentos de descontração.

Aos meus amigos e professores do Laboratório de Ecologia e Controle Biológico da (UFRPE) e demais do PPGEA, em especial ao Paulo Roberto por todo ensinamento, paciência na condução dos experimentos e orientação e ao Professor Jorge Braz Torres por todo conhecimento compartilhado, orientação, ensinamentos e exemplo de profissionalismo.

Ao Professor Herbert Álvaro pela disponibilidade nas coletas e aos demais amigos, Denner, Rogério, Anderson, Roberta, Alessandra, Deividy, Luziane, Alice e Liliane pelos momentos vividos.

A todos aqueles que de alguma forma participaram na minha caminhada para eu chegar até aqui. Muito obrigado!

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	1
GENERAL ABSTRACT	2
1. INTRODUÇÃO GERAL	3
2. REVISÃO DE LITERATURA	6
2.1 Cana-de-açúcar	6
2.2 <i>Diatraea flavipennella</i> (Box, 1931) (Lepidoptera: Crambidae) e <i>Diatraea saccharalis</i> (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae)	7
2.3 <i>Tetrastichus howardi</i> (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae).....	8
3. OBJETIVO GERAL.....	10
3.1 Objetivos Específicos.....	10
4. HIPÓTESES.....	10
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	11
Capítulo I: Parasitismo e desenvolvimento de <i>Tetrastichus howardi</i> (Hymenoptera: Eulophidae) em lagartas e pupas de <i>Diatraea flavipennella</i> e <i>Diatraea saccharalis</i> (Lepidoptera: Crambidae).....	16
RESUMO	17
ABSTRACT	18
1. INTRODUÇÃO.....	19
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
2.1 Local de condução dos experimentos	21
2.2 <i>Tenebrio molitor</i> (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Tenebrionidae)	21
2.3 <i>Tetrastichus howardi</i> (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae).....	21
2.4 <i>Diatraea flavipennella</i> (Box, 1931) (Lepidoptera: Crambidae).....	21
2.5 Desenvolvimento Experimental	22
2.5.1 Parasitismo de lagartas e pupas de <i>Diatraea flavipennella</i> e <i>Diatraea saccharalis</i>	22
2.5.2 Parasitismo de lagartas e pupas de <i>Diatraea flavipennella</i> por <i>Tetrastichus howardi</i> com e sem chance de escolha.....	24
2.5.3 Parasitismo de lagartas e pupas de <i>Diatraea flavipennella</i> em mudas de cana-de-açúcar....	24
2.6 Análise estatística.....	25
3. RESULTADOS	26

4. DISCUSSÃO.....	28
5. CONCLUSÃO.....	33
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
Capítulo II: Longevidade de <i>Tetrastichus howardi</i> (Hymenoptera: Eulophidae) sob diferentes condições de alimentação e temperatura	42
RESUMO	43
ABSTRACT	44
1. INTRODUÇÃO.....	45
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	47
2.1 Local de condução dos experimentos	47
2.2 <i>Tenebrio molitor</i> (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Tenebrionidae)	47
2.3 <i>Tetrastichus howardi</i> (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae).....	47
2.4 Desenvolvimento experimental.....	48
2.5 Análise estatística.....	49
3. RESULTADOS	50
4. DISCUSSÃO.....	53
5. CONCLUSÃO.....	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	62
ANEXOS.....	63

RESUMO GERAL

Tetrastichus howardi (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide preferencialmente de lepidópteros. Objetivou-se avaliar o parasitismo e desenvolvimento deste parasitoide em *Diatraea flavipennella* (Box, 1931) (Lepidoptera: Crambidae) e *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), além de determinar sua longevidade em diferentes condições de temperatura e alimento, como também conhecer sua preferência de parasitismo com e sem chance de escolha, localização e parasitismo do hospedeiro em plantas de cana-de-açúcar. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Ecologia e Controle Biológico de Insetos, no Laboratório de Patologia de Insetos e no Laboratório de Comportamento de Insetos, bem como na Área Experimental do Departamento de Agronomia-Entomologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Recife – PE. No primeiro experimento lagartas de segundo ao quinto instar e pupas de *D. flavipennella* e de *D. saccharalis* foram oferecidas individualmente a uma fêmea de *T. howardi* em placas de Petri, com diferentes períodos, sendo de 24 ou 96 horas de parasitismo. O parasitismo de pupas foi superior a 87% por 24 horas de exposição, tanto em *D. saccharalis* como em *D. flavipennella*, enquanto que para as lagartas o máximo foi de 14,0% para *D. flavipennella* em 96 horas de parasitismo, respectivamente. Conclui-se que *T. howardi* pode ser um importante aliado no controle biológico das brocas da cana-de-açúcar, especialmente se tendo como alvo a fase de pupa. A longevidade foi inversamente proporcional ao aumento da temperatura, independente da condição de alimentação. Do mesmo modo, independente da temperatura, parasitoides alimentados diariamente exibiram longevidade maior. A alimentação antes da liberação do parasitoide, além de prolongar sua sobrevivência em condições de 18 ou 20°C, pode auxiliar na manutenção do parasitoide em laboratório até o momento de liberação. *T. howardi* parasitou maior quantidade de pupas, que lagartas em condições de chance e sem chance de escolha, além de emergência de descendentes apenas em pupa. Em relação à localização e parasitismo de lagartas e pupas de *D. flavipennella* por *T. howardi*, 70% e 33% originaram adultos respectivamente, demonstrando que a fase de pupa foi onde teve maior influência por conta do parasitismo, impedindo o desenvolvimento. O resultado geral deste estudo sugere que o *T. howardi* tem potencial para complementar o programa de controle biológico já estabelecido contra a broca da cana-de-açúcar, utilizando vespas braconídeas que atacam primariamente larvas; enquanto o parasitoide estudado prefere pupas de broca-da-cana de *D. flavipennella* e *D. saccharalis*.

Palavras-chave: Controle Biológico; Eulophidae; Endoparasitoide; Parasitoide de pupa.

GENERAL ABSTRACT

Tetrastichus howardi (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) is an endoparasitoid with potential as biocontrol agent. This study aimed to evaluate the parasitism of *T. howardi* up on *Diatraea flavipennella* (Box, 1931) (Lepidoptera: Crambidae), in addition to determining its survival under different regimes of temperature and food availability, further, preference between larvae or pupae with choice and not-choice tests were run and host location in sugarcane plants. The experiments were conducted at the Laboratório de Ecologia e Controle Biológico de Insetos, in the Laboratório de Patologia de Insetos and in the Laboratório de Comportamento de Insetos, as well as in the Área Experimental of the Departamento de Agronomia-Entomologia of Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Recife – PE. The first experiment consisted of exposing larvae 2nd to 5th instar and pupae of *D. flavipennella* and *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) to one single female of the parasitoid for 24 or 96 hours of parasitism. The parasitism of pupae was greater than 87% at 24 hours of exposure, both in *D. flavipennella* and *D. saccharalis*, while parasitism of larvae reached maximum 14% at 96 hours. We can conclude that *T. howardi* can be an important biological control agent against sugarcane borer pupa. The survival of *T. howardi* was inversely proportional to temperature increase, regardless of the feeding condition. Likewise, regardless of temperature, parasitoids fed daily showed greater longevity. Feeding prior to release of the parasitoid, in addition to prolonging its survival in conditions of 18 or 20 °C, may help in the maintenance of the parasitoid in the laboratory until the moment of release. *T. howardi* parasitized more pupae, than caterpillars in conditions of chance and with no chance of choice, besides the emergence of descendants only in pupae. Regarding the location and parasitism of *D. flavipennella* caterpillars and pupae by *T. howardi*, 70% and 33% originated adults respectively, demonstrating that the pupa stage was the one with the greatest influence due to parasitism, hindering the development. The overall outcome of this study suggest that *T. howardi* has potential to complement Biological Control Program already established against sugarcane borer using braconid wasp that attacks primarily larvae; while, the studied parasitoid prefers pupae of sugarcane borers of *D. flavipennella* and *D. saccharalis*.

Keywords: Biological Control; Eulophidae; Endoparasitoid; Pupa parasitoid.

1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil destaca-se como o maior produtor de cana-de-açúcar em escala mundial. Com base no primeiro levantamento anual realizado pelo Ministério da Agricultura, por meio da Companhia Nacional de Abastecimento – CONAB (2019). Estima-se que na safra 2018/2019, a produção foi de 625, 96 milhões de toneladas de cana, com aproximadamente 35,48 milhões de toneladas de açúcar e 28,16 bilhões de litros de etanol. A área colhida no território brasileiro é superior à 8 milhões de hectares. Em Mato Grosso do Sul, a área cultivada está em torno de 666 mil há com produção de 49, 34 mil toneladas.

A imensa área cultivada com cana-de-açúcar no Brasil favorece o aumento da população de alguns insetos que são de importância agrícola, que podem causar diversos danos à cultura, como o comprometimento fisiológico da planta. Dentre os principais insetos-praga da cultura da cana são a cigarrinha da folha, *Mahanarva posticata* (Stal, 1855) (Hemiptera: Cercopidae), a cigarrinha-da-raiz *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (Hemiptera: Cercopidae), a broca gigante *Telchin licus licus* (Drury, 1773) (Lepidoptera: Castniidae) e as brocas de colmo do gênero *Diatraea* spp. (CASTRO et al., 2005; MARQUES et al., 2009).

No Brasil predominam as espécies *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) e *Diatraea flavipennella* (Box, 1931) (Lepidoptera: Crambidae) infestando os canaviais, sendo a primeira difundida ao longo do país, enquanto a segunda está restrita a região nordeste, comum ocorrência nos estados de Alagoas, Pernambuco, Paraíba e Rio Grande do Norte (GUAGLIUMI, 1972, 1973; MENDONÇA, 1996; FREITAS et al., 2007).

A broca da cana-de-açúcar, *D. flavipennella*, destaca-se como um inseto de grande importância econômica, principalmente, nos canaviais nordestinos. Mais de 97% da população amostrada do complexo de brocas-do-colmo, em Alagoas, foi de *D. flavipennella* e somente 2,33% de *D. saccharalis* (FREITAS et al., 2007; VALENTE et al., 2014).

As lagartas causam prejuízos diretos, ocasionado pela abertura de galerias, o que resulta em perda de peso da cana, ou até mesmo seccionam o colmo, provocando sua quebra pela ação de ventos, enraizamento aéreo e germinação de gemas laterais, podendo assim, levar à morte da gema apical da planta, especialmente em canas novas. Além disso, as lagartas podem causar prejuízos indiretos, pois através de orifícios e

galerias ocorre à penetração de fungos, como *Colletotrichum falcatum* que causa a podridão vermelha do colmo, responsável por inverter a sacarose, diminuindo assim, a pureza do caldo e o rendimento industrial no processo de produção de açúcar e/ou do álcool (GARCIA, 2013).

Diatraea flavipennella em condições de laboratório e alimentada com dieta artificial, apresenta um período larval médio de 34,87 dias e 7 instares, com estágio pupal durando em média de 12,75 dias. As pupas apresentam dimorfismo sexual, onde as fêmeas são maiores que os machos, os quais exibem um poro genital, ausente em fêmeas. As fêmeas adultas apresentam-se maiores que os machos, com envergadura, em média de 28,73 mm e 20,80 mm para machos (FREITAS et al., 2007).

O controle biológico com parasitoides tem sido a forma mais utilizada contra a broca-da-cana, pois o controle com produtos químicos se torna quase inviável, devido à fase larval do inseto desenvolver dentro do colmo da planta (VACARI et al., 2012; PARRA, 2014).

Programas de controle biológico têm apresentado crescimento relativo, devido ao novo direcionamento internacional de produção agropecuária, em busca da conservação e do uso sustentável dos recursos naturais (BARBOSA et al., 2008). Além disso, a utilização de inimigos naturais no controle de pragas tem sido apontada como uma alternativa promissora devido à eficiência e aos baixos custos relativos (BARBOSA et al., 2008; VACARI et al., 2012).

Liberações inundativas do endoparasitoide larval, *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) para o controle de *Diatraea* spp. é a forma mais utilizada no Brasil desde 1974, quando este agente de controle biológico foi introduzido no Estado de Alagoas, consolidando assim, o sucesso do controle biológico destas brocas (PARRA et al., 2002; PINTO, 2006). No Brasil o controle biológico de brocas da cana-de-açúcar tem sido predominante com parasitoide (PARRA, 2014).

Tetrastichus howardi apresentou habilidade de localizar e parasitar *D. saccharalis* mesmo estando protegida no interior da planta (FELIX et al., 2005). Em 2010, *T. howardi* foi coletado em pupa em plantio de milho no município de Sete Lagoas, Minas Gerais (CRUZ et al., 2011).

Tetrastichus howardi tem capacidade de parasitar diferentes fases de seu hospedeiro natural como pupa, lagarta e emergir em adultos (VARGAS, 2011; PEREIRA et al., 2015), além de sua facilidade de multiplicação em hospedeiro

alternativo *Tenebrio molitor* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Tenebrionidae) (OLIVEIRA, 2013).

Pensando no controle biológico de *D. flavipennella* com parasitoide, é indispensável à busca por novos agentes com potencial de parasitar e se desenvolver no respectivo hospedeiro. Então, objetivou-se avaliar o parasitismo e desenvolvimento de *T. howardi* em *D. flavipennella* e *D. saccharalis*, além de determinar sua longevidade em diferentes condições de temperatura e alimento, como também conhecer sua preferência de parasitismo com e sem chance de escolha, localização e parasitismo do hospedeiro em plantas de cana-de-açúcar.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar *Saccharum officinarum*, é uma monocotiledônea pertencente à família Poaceae, de origem ainda controversa, mas provavelmente do continente Asiático. Essa planta chegou ao Brasil, juntamente com a colonização portuguesa, sendo então uma das primeiras culturas introduzidas no país com fins lucrativos (CASTRO, 2001).

É uma monocultura muito bem adaptada as condições climáticas tropicais, sendo esta condição a principal para o cultivo desta planta. É uma planta herbácea, perene, onde o caule é constituído por nós e entrenós (colmo), apresenta raiz fasciculada, inflorescência do tipo panícula, folhas alternas ou opostas, possuem nervuras paralelinérvias e bainha larga. Quanto a sua estrutura geral é constituída por raízes, folhas, flores e colmo (JOLY, 2002; SEGATA, 2006).

Nas últimas décadas o interesse por esta cultura aumentou significativamente, devido à grande importância econômica, social e ambiental que a mesma possui, como na produção de combustível (etanol), açúcar e ração animal (ÚNICA, 2009).

A imensa área de cultivo com a monocultura de cana e devido às condições edafoclimáticas favoráveis ao seu desenvolvimento, fez do Brasil líder na produção mundial desta cultura, sendo assim, grande parte da produção é exportada, contribuindo fortemente com o agronegócio brasileiro (CONAB, 2019).

A estimativa de produção de cana-de-açúcar em área por região do Brasil é: Sudeste com (5.344,9 mil ha), Centro-Oeste (1.801,9 mil ha), Nordeste (843,2 mil ha), Sul (573,0 mil ha) e Norte com (50,6 mil ha). Com maiores estados produtores de cana por tonelada, temos São Paulo com 337.241,4 milhões, em segundo lugar vem Goiás com 71.135,7 milhões, em terceiro vem o Paraná com 37.808,9 milhões, a quarta posição é ocupada pelo Estado de Alagoas com 13.339,1 milhões de toneladas e por fim Tocantins com 2.153,8 milhões (CONAB, 2019).

Um dos fatores que limita o desenvolvimento desta planta e conseqüentemente afeta a produção nacional de cana é a ação de insetos-praga, pois causam injúrias nesta cultura e ocasionam perdas econômicas pela redução da cana disponível para serem processada, além da diminuição do açúcar por tonelada (MENDONÇA, 1996). Dentre às principais pragas agrícolas estão as do gênero *Diatraea*, distribuídas nas espécies *D. saccharalis* e *D. flavipennella*, dessa forma, a primeira espécie é distribuída de forma

generalizada em todo território nacional, enquanto a segunda espécie está concentrada nos estados do Espírito Santo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Norte e Nordeste do país (MENDONÇA et al., 1996; PINTO, 2006). Infestações de tais brocas causam danos por abrirem galerias no colmo, levando a planta perder peso, morte da gema apical, secamento das ponteiros, observação de “coração morto” nas canas novas, além de brotações laterais e enraizamentos aéreos (GALLO et al., 2002).

2.2 *Diatraea flavipennella* (Box, 1931) (Lepidoptera: Crambidae) e *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae)

As brocas da cana-de-açúcar são insetos holometábolos, apresentam metamorfose completa passando pelas fases de ovo, larva, pupa e adulto (BOTELHO et al., 2002). Quanto à distribuição geográfica, a espécie *D. saccharalis* é considerada uma das principais pragas da cana-de-açúcar das Américas, sendo provavelmente originária da América central e do Sul e a *D. flavipennella* no Brasil (GALLO et al., 2002).

Algumas características da biologia de *D. flavipennella* foram definidas de acordo com às condições de laboratório de $26 \pm 1^\circ\text{C}$, $80 \pm 10\%$ U.R e fotoperíodo de 12h para lagartas alimentadas em dieta artificial e os ovos, já às pupas e adultos foram mantidos a $22 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ U.R e fotoperíodo de 12h. O ciclo de vida ocorre em torno de 65 dias, dividido em fase larval que apresenta média de $34,87 \pm 0,41$ (distribuído em sete instares), pupa de $12,75 \pm 0,42$, adultos de $9,17 \pm 0,69$ e ovo de $8,35 \pm 0,17$ (FREITAS et al., 2007).

Em campo, uma fêmea ovíparosita em média 430 ovos, sendo frequente no limbo, tanto superior como inferior, e ocasionalmente, na bainha foliar. Os ovos são depositados em grupos, com formato oval achatado e quando os embriões estão formados, próximo à eclosão, adquirem forma elíptica e coloração amarelada, tornando-se escuro, devido à cápsula cefálica da larva estar visível (FREITAS et al., 2007). Após a eclosão, às larvas neonatas, deslocam-se através de fio de seda, alimentam-se inicialmente raspando a folha e fazendo galerias na nervura central. Logo após realizar as primeiras ecdises penetram no colmo, na base do cartucho ou na região das gemas (MENDONÇA et al., 1996; FREITAS et al., 2007).

As lagartas de *D. flavipennella* apresentam coloração amarelada, o que é muito característico, principalmente na cápsula cefálica, além de pontuações dispostas desuniformemente, ou seja, sem formação linear das pontuações no dorso, como é

observada em *D. saccharalis*. É observado também três pares de pernas torácicas, quatro pares de falsas pernas abdominais, além de um par de falsas pernas anais. As brocas do gênero *Diatraea* spp completamente desenvolvida pode atingir 2,5 cm (BOTELHO et al., 2002).

Os adultos de *D. flavipennella* apresentam coloração esbranquiçada com tamanho variando entre 18-33 mm, com dimensões médias de $28,73 \pm 0,25$ mm para fêmeas e $20,8 \pm 0,86$ mm para machos (FREITAS et al., 2007). Os machos são menores que as fêmeas e apresentam o último par de pernas com concentração elevada de cerdas o que é ausente em fêmeas. Outra diferença é o abdome volumoso em fêmeas quando comparado com o macho (BOTELHO et al., 2002).

2.3 *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae)

Tetrastichus howardi, ordem Hymenoptera, superfamília Chalcidoidea e família Eulophidae. Esta família é constituída por 443 gêneros e mais de 5000 espécies descritas, no qual, está distribuído em cinco subfamílias: Entiinae, Eulophinae, Entedoninae, Tetrastichinae e Ophelminae (NOYES, 2015).

Tetrastichus howardi, foi descrito em 1893 como *Euplectus howardi* a partir de indivíduos que emergiram de *Bathytricha truncata* (Walker, 1856) (Lepidoptera: Noctuidae) (BOUCEK, 1988). Além do mais, possui as sinonímias *Tetrastichus ayyari* (CHERIAN e SUBRAMANIAN, 1940); *Aprostocetus israeli* (BOUCEK, 1988) e *Tetrastichus nigricarpus* (HAYAT e SHAHI, 2004).

Este parasitoide apresenta grande distribuição geográfica, sendo registrado desde a região Afrotropical, Àsia, Austrália e região Neotropical (LA SALLE et al., 2007). No Brasil, existem registros de sua ocorrência em lagarta de *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) em plantio orgânico de couve *Brassica oleracea*, Chã Grande, Pernambuco (SILVA-TORRES et al., 2010); em pupa de *Diatraea saccharalis* na cultura do milho (*Zea mays*) em Sete Lagoas, Estado de Minas Gerais (CRUZ et al., 2011); e em pupa de *D. saccharalis* na cultura da cana em Dourados, Mato Grosso do Sul (VARGAS et al., 2011).

Tetrastichus howardi é um endoparasitoide que possui hábito gregário, caracterizando também como parasitoide primário ou hiperparasitoide facultativo, parasitando preferencialmente lepidópteros (SULLIVAN e VÖLKL, 1999). Em condições de laboratório $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas, na densidade de uma fêmea parasitoide por pupa de *D. saccharalis*, obteve-se variação

de parasitismo entre 91,6 a 100%; 83,3% a 100% de emergência e $56,2 \pm 5,73$ a $135,6 \pm 4,40$ indivíduos; ciclo de vida (ovo-adulto) de 17 a 25,6 dias e razão sexual de 0,90 a 0,96 (VARGAS, 2013).

Tetrastichus howardi apresenta capacidade de parasitar diferentes fases de desenvolvimento de seu hospedeiro natural, impedindo assim seu desenvolvimento, além de emergir na fase de adulto de *D. saccharalis* (VARGAS et al., 2013; PEREIRA et al., 2015). Além disso, apresenta plasticidade quanto à temperatura, parasitando e se desenvolvendo em variação térmica entre 16 e 31 °C, o que demonstra a capacidade de se adaptar a diferentes condições de temperatura de diferentes regiões produtoras de cana-de-açúcar. Pensando na produção massiva, pupas de *D. saccharalis* podem ser armazenadas por um período de 25 dias em temperatura de 10 °C, e posteriormente utilizadas na multiplicação do parasitoide. As pupas de *D. saccharalis* quando parasitadas, demonstraram a possibilidade de estender o ciclo de vida do parasitoide, armazenando a pupa numa temperatura de 10 °C por até dez dias, não afetando os aspectos biológicos da geração parental e F1 (FAVERO, 2013).

Este parasitoide pode ser criado empregando o hospedeiro alternativo *Tenebrio molitor* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Tenebrionidae), o que não compromete suas características biológicas por até três gerações sucessivas, podendo ser criado posteriormente no hospedeiro natural *D. saccharalis* (OLIVEIRA, 2013).

Conhecer aspectos biológicos do parasitoide como longevidade, razão sexual e capacidade de parasitar diferentes fases do hospedeiro, além de sua multiplicação em grande quantidade em condições de laboratório e com facilidade são essenciais, pois são aspectos base para que futuros programas de controle biológico com *T. howardi* sejam eficientes (COSTA, 2013).

3. OBJETIVO GERAL

- Avaliar o potencial de *Tetrastichus howardi* em parasitar lagartas e pupas de *Diatraea flavipennella* em condições de laboratório.

3.1 Objetivos Específicos

- Avaliar se fêmeas de *Tetrastichus howardi* parasitam e se desenvolvem em lagartas de diferentes instares e pupas de *Diatraea flavipennella* e *Diatraea saccharalis* em condições de laboratório;
- Avaliar a longevidade de *Tetrastichus howardi* submetidas a condições variadas de temperatura e alimento;
- Verificar se fêmeas de *Tetrastichus howardi* localizam e parasitam pupas ou lagartas de *Diatraea flavipennella* em cana-de-açúcar.

4. HIPÓTESES

- 1- *Tetrastichus howardi* parasita e se desenvolve em lagartas de diferentes instares e pupas de *Diatraea flavipennella* e de *Diatraea saccharalis*;
- 2- *Tetrastichus howardi* consegue localizar e parasitar lagartas de quinto instar e pupas de *Diatraea flavipennella* em cana-de-açúcar;
- 3- *Tetrastichus howardi* apresenta preferência de parasitismo em pupa;
- 4- A alimentação e temperatura interagem na expectativa de vida de *Tetrastichus howardi* em condições variáveis de temperatura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, L.S.; COURI, M.S.; COELHO, V.M.A. Desenvolvimento de *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas de *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775) (Diptera: Calliphoridae), utilizando diferentes densidades do parasitoide. **Biota Neotropica**, v. 8, p. 49-54, 2008.

BOUČEK, Z. **Australasian Chalcidoidea (Hymenoptera). A biosystematic revision of genera of fourteen families, with a reclassification of species.** CAB 23 International: Wallingford, Oxon, p. 832, 1988.

BOTELHO, P.S.M.; MACEDO, N. *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis* In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORREA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Eds.) **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores.** São Paulo: Manole, Cap. 25, p. 409-425, 2002.

CASTRO, P.R.C.; CHRISTOFFOLETI, P.J. **Fisiologia da cana de açúcar.** In: **Mendonça, A.F. (Ed.), Cigarrinhas da cana-de-açúcar: Controle Biológico. Maceió: Insecta**, p.3-48, 2005.

CHERIAN, M. C.; SUBRAMANIAN, C. K. *Tetrastichus ayyari* Rohw. A pupal parasite of some moth-borer in south India. **Indian Journal of Entomology**, v.2, p.75-77, 1940.

COSTA, D. P. **Interações biológicas entre *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) e *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) no parasitismo de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar.** 82p. Tese (Doutorado em agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2013.

CONAB – **Companhia Nacional de Abastecimento**, 2019. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 28 jan. 2019.

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

FAVERO, K. **Desempenho biológico de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) multiplicado em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) sob diferentes temperaturas.** 93p. Tese (Doutorado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) - Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2013.

FELIX, J.; GONZALEZ, A.; MONTES DE OCA, F.N.; RAVELO, H.G.; BAITHA, A. Interaction of *Lixophaga diatraeae* (Townsend, 1916) and *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) for Management of *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) in Cuba. **Sugar Tech**, v. 7, p. 5-8, 2005.

FREITAS, M.R.T.; SILVA, E.L.; MENDONÇA, A.L.; SILVA, C.E.; FONSECA, A.P.P.; MENDONÇA, A.L.; SANTOS, J.S.; NASCIMENTO, R.R.; SANT'ANA, A.E.G. The biology of *Diatraea flavipennella* reared under laboratory conditions. **Florida Entomologist**, v. 90, p. 309-313, 2007.

GALLO, D.; NAKANO, O.; NETO, S.S.; CARVALHO, P.L.R.; BAPTISTA, G.C.; FILHO, E.B.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba, FEALQ, p. 450, 2002.

GARCIA, J.F. **Manual de identificação de pragas da cana**. FMC. p. 219, 2013.

GUAGLIUMI, P. **Pragas da Cana-de-açúcar (Nordeste do Brasil)**. Instituto do Açúcar e do Alcool, Rio de Janeiro, p. 622, 1972/73.

HAYAT, M.; SHAHI, M. H. Taxonomic notes on Indian Eulophidae (Hymenoptera: Chalcidoidea). On the types of some Tetrastichinae. **Oriental Insects**, v. 38, p. 303-31, 2004.

JOLY, A. B. **Botânica. Introdução à taxonomia vegetal**. São Paulo: Companhia Editora Nacional, p. 22, 2002.

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

CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A. **Ecofisiologia de culturas extrativas: cana-de-açúcar, seringueira, coqueiro, dendezeiro e oliveira**. Cosmópolis: Stoller do Brasil, p. 138, 2001.

MARQUES, E.J.; LIMA, R.O.R.; OLIVEIRA, J.V. **Pragas da cana-de-açúcar: nordeste do Brasil**. EDUFRPE, p. 54, 2009.

MENDONÇA, A.F.; SEREGATTE, A.S.; MORAES, F.A.; OLIVEIRA, W.H. **Manejo integrado da broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1974) (Lepidoptera: Piralyidae) na agroserra, Maranhão, Brasil, Pragas da cana-de-açúcar**, p. 219-225, 1996.

MENDONÇA, A.F. **Guia das principais pragas da cana-de-açúcar na América Latina e Caribe**. In: A.F. MENDONÇA (Ed.). Pragas da cana-de-açúcar. Maceió: Insetos & Cia, p. 1-48, 1996.

NOYES, J.S. **Universal Chalcidoidea Database** – World Wide Web electronic publication. Disponível em: <http://www.nhm.ac.uk/chalcidoids/index>. Acesso em: 16 Fev. 2019.

OLIVEIRA, F. G. **Multiplicação de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) e de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)**. 53p. Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) - Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2013.

OLIVEIRA, H.N.; SIMONATO, J.; GLAESER, D.F.; PEREIRA F.F. Parasitism of *Helicoverpa armigera* pupae (Lepidoptera: Noctuidae) by *Tetrastichus howardi* and

Trichospilus diatraeae (Hymenoptera: Eulophidae). **Semina Ciência Agrária**, v. 37, p. 111, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n1p111>.

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

PARRA, J.R.P. Biological control in Brazil: an overview. **Scientia Agricola**, v.71 p. 420–429, 2014.

PEREIRA, F.F.; KASSAB, S.O.; VARGAS, E.L.; CALADO, V.R.F.; OLIVEIRA, H. N.; ZANUNCIO, J.C. Parasitism and emergence of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on the caterpillars, pupae and adults of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **The Florida Entomologist**, v. 95, p. 384-387, 2015.

PINTO, A.S.; CANO, M.A.V.; SANTOS, E.M. A broca-da-cana, *Diatraea saccharalis*. In: PINTO, A.S.; BATISTA FILHO, A.; GINARTE, C.M.A.; SANTOS, E.M.; ARRIGONI, E.B.; STINGEL, E.; TAVARES F.M.; ALMEIDA, J.E.M.; GARCIA, J.F.; BENTO, J.M.S., MACHADO, L.A.; MACEDO, L.P.M.; LEITE, L.G.; ALMEIDA, L.C.; CANO, M.A.V.; BOTELHO P.S.M. (Ed.). Controle de pragas da cana-de-açúcar. Sertãozinho: **Biocontrol**, 2006. p. 9-13.

SEGATO, S.V.; PINTO, A. de S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J.C.M. de. **Atualização em produção em cana-de-açúcar**. Piracicaba: Livroceres, p. 415, 2006.

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

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

UNICA. **União da Indústria de Cana-de-açúcar**, São Paulo. Disponível em: <http://www.unica.com.br/FAQ/> Google Scholar. Acesso em: 19 Set. 2018.

VACARI, A.M.; DE BORTOLI, S.A.; BORBA, D.F.; MARTINS, M.I.E.G. Quality of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) reared at different host densities and the estimated cost of its commercial production. **Biological**, v. 63, p. 102-106, 2012.

VALENTE, E.C.N.; MARQUES, E.J.; OLIVEIRA, J.V.; SILVA, C.C.M.; PASSOS, E.M.; GUIMARÃES, J. Efeito de fungos entomopatogênicos sobre formas imaturas de *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 9, p. 248-258, 2014.

VARGAS, E.L.; PEREIRA, F.F.; TEXEIRA, M.T.; PASTORI, P.L. Record of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Diatraea* sp. (Lepidoptera: Crambidae) in sugar cane crop in Brasil. **Entomotropica**, v. 26, p. 143-146, 2011.

VARGAS, E.L. **Parasitismo e desenvolvimento de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em lagarta e pupa de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)**. 88p. Tese (Doutorado em agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2013.

Capítulo I

Parasitismo e desenvolvimento de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em lagartas e pupas de *Diatraea flavipennella* e *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)

RESUMO

Tetrastichus howardi (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide gregário de lagartas e pupas de diversas espécies de lepidópteros considerados pragas agrícolas. O presente trabalho teve como objetivo avaliar as características biológicas de *T. howardi* em lagartas e pupas das brocas da cana-de-açúcar, *Diatraea flavipennella* (Box, 1931) e *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). Lagartas de segundo, terceiro, quarto e quinto instares e pupas de *D. flavipennella* e *D. saccharalis* foram individualizadas com uma fêmea do parasitoide em placas de Petri por 24 horas. Em outro bioensaio, lagartas de ambas as espécies de broca foram confinadas por 96 horas com uma fêmea do parasitoide. Independente do instar e da espécie de broca ofertadas, *T. howardi* não se desenvolveu em nenhuma lagarta no intervalo de 24 horas de exposição, enquanto o parasitismo de pupas foi superior a 87% na mesma condição. Das pupas de *D. flavipennella* emergiram em média $53,5 \pm 3,96$ parasitoides, sendo 91% fêmeas, enquanto de pupas de *D. saccharalis* emergiram $60,4 \pm 2,47$ parasitoides, sendo 95% fêmeas. Diferindo do experimento anterior, na exposição por 96 horas o parasitismo de lagartas de segundo ao quinto instar de *D. flavipennella* e de quinto instar de *D. saccharalis* variou de 4 a 14%. O número de parasitoides emergidos por lagarta variou de 1 a 85, com mais de 92% de fêmeas. Nossos resultados indicam que *T. howardi* pode ser um importante aliado no controle biológico das brocas da cana-de-açúcar, especialmente para a fase de pupa.

Palavras-chave: Controle Biológico; Eulophidae; endoparasitoide; parasitoide de pupa.

ABSTRACT

Tetrastichus howardi (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) is a gregarious endoparasitoid of larvae and pupae of various lepidopteran pest species. The present work aimed to determine biological characteristics of *T. howardi* parasitizing larvae and pupae of sugarcane borers, *Diatraea flavipennella* (Box, 1931) and *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). Second, third, fourth, fifth instar, and pupae of *D. flavipennella* and *D. saccharalis* were placed with one female of *T. howardi* in petri dishes for 24 hours. In another bioassay, larvae of both borer species were confined for 96 hours with one parasitoid female. Regardless of the larval instar and borer species, *T. howardi* did not parasitize larvae within 24 hours exposition period, while the parasitism of pupae was higher than 87% in the same condition. On average, emerged 53 parasitoids with 91% female, for pupae of *D. flavipennella*, whereas approximately 60 parasitoids with 95% female for pupae of *D. saccharalis*. Differing from the first study, within the 96-hour exposure, parasitism from the second to the fifth instar of *D. flavipennella* and the fifth instar of *D. saccharalis* ranged from 4 to 14%. The number of parasitoids emerging per parasitized larvae varied from 1 to 85 with more than 92% of females. Our results indicated that *T. howardi* can be an important biological control agent sugarcane borers, especially when targeting pupal stage.

Keywords: Biological Control; Eulophidae; endoparasitoid; pupae parasitoid.

1. INTRODUÇÃO

O controle biológico com parasitoides tem sido a forma mais utilizada para o controle das brocas-da-cana, pois o controle com produtos químicos se torna quase inviável, devido à fase de lagarta da praga se desenvolver em local protegido, dentro do colmo (VACARI et al., 2012). Assim, o uso de parasitoides contra as brocas tem sido de grande sucesso no Brasil e os estudos para ampliação de uso tornam-se relevantes devido ao comportamento de desenvolvimento da praga, a grande extensão de área cultivada com cana-de-açúcar, o que exigiria aplicação de grande quantidade de inseticida no ambiente e aplicação aérea para cobrir tais extensões de cultivo (PARRA, 2014).

A cana-de-açúcar tem grande importância para o comércio brasileiro, sendo um dos principais produtos geradores de renda (CONAB, 2019). A produção estimada para a safra 2018/2019 é de 625 milhões de toneladas, com aproximadamente 35 milhões de toneladas de açúcar e 28 bilhões de litros de etanol. A área colhida está estimada em mais de 8 milhões de hectares. Estes valores ditam a dimensão do cultivo e a importância do manejo correto de pragas com a minimização do uso de inseticidas. Há registro de inseticidas para pulverização de cana-de-açúcar contra espécies de *Diatraea* spp. porém existem limitações de custo e forma de aplicação, a qual depende da pulverização aérea (AGROFIT, 2019).

Assim, o cultivo demanda cuidados, uma vez que está sujeita a infestações de insetos-praga, principalmente lepidópteros broqueadores de colmo, que resultam em perdas diretas de produção como *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) e *Diatraea flavipennella* (Box, 1931) (Lepidoptera: Crambidae) (MARQUES et al., 2009; MENDONÇA, 1996).

Parasitoides Eulophidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) representam espécies importantes para o controle biológico, principalmente contra insetos-praga da ordem Lepidoptera (PARON et al., 2000; ZACHÉ et al., 2010; GADALLAH 2015; PEREIRA et al., 2015). Entre eles, destaca-se *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) que é um endoparasitoide que possui hábito gregário, caracterizando também como parasitoide primário ou hiperparasitoide facultativo, e que apresenta potencial no controle de diferentes pragas, parasitando e se desenvolvendo em estágios de desenvolvimento dos hospedeiros, mostrando-se assim um agente para futuros

programas de controle biológico (SULLIVAN et al., 1999; VARGAS et al., 2011; COSTA et al., 2014; PEREIRA et al., 2015).

O sucesso da utilização de *T. howardi* em programas de controle biológico aplicado, depende de pesquisas que investigam seu potencial biológico, como também a adequação de sua produção em laboratório para futuras liberações, bem como sua dispersão em campo (PEREIRA et al., 2009; FAVERO et al., 2013; BARBOSA et al., 2019). A utilização de parasitoide no controle de insetos é uma alternativa bastante propícia, visto que sua multiplicação em laboratório, além de sua eficiência no controle de pragas vem sendo pesquisado e demonstrando resultados satisfatórios (FAVERO et al., 2013; OLIVEIRA, 2013; PIÑEYRO et al., 2016). *Tetrastichus howardi* apresenta capacidade de parasitar diferentes fases e idades de desenvolvimento de *D. saccharalis*, além de emergir na fase de adulto desse hospedeiro (VARGAS, 2013; COSTA et al., 2014; PEREIRA et al., 2015). Com isso, novas pesquisas podem ser realizadas, como conhecer o potencial de *T. howardi* no controle de *D. flavipennella*.

Programas de controle biológico têm apresentado relativo crescimento, devido ao novo direcionamento internacional de produção agropecuária, em busca da conservação e do uso sustentável dos recursos naturais. Além disso, a utilização de inimigos naturais no controle de pragas tem sido apontada como uma alternativa promissora devido à eficiência e aos baixos custos relativos (BARBOSA et al., 2008; VACARI et al., 2012; VAN LENTEREN et al., 2018).

Diante do exposto neste estudo avaliou o potencial de parasitismo e desenvolvimento de *T. howardi* nos hospedeiros de *D. flavipennella* e *D. saccharalis*, em condições de laboratório.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de condução dos experimentos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Ecologia e Controle Biológico de Insetos, no Laboratório de Patologia de Insetos e no Laboratório de Comportamento de Insetos do Departamento de Fitossanidade da Universidade Federal Rural de Pernambuco –UFRPE, Recife – PE.

2.2 *Tenebrio molitor* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Tenebrionidae)

A criação de *T. molitor* cujas pupas serviram como hospedeiro alternativo a *T. howardi*, foi estabelecida em bandejas plásticas (45x30x12 cm). As larvas foram alimentadas com uma mistura de farelo de trigo (95%) e levedura de cerveja (5%) e, como fonte de hidratação, receberam semanalmente fatias de cenoura ou segmentos de cana-de-açúcar até a formação das pupas. Estas se destinaram à manutenção da própria colônia e à multiplicação do parasitoide. Seguindo metodologia de criação proposta por (ZAMPERLINE et al.,1992).

2.3 *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae)

A criação de *T. howardi* foi estabelecida a partir de espécimes fornecidos pelo Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL), da Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD. Adultos do parasitoide foram mantidos em tubos de vidro de fundo chato (10x2 cm) vedados com filme plástico de PVC, onde receberam como alimento gotículas de mel puro ofertado na parede interna dos tubos. Para manutenção da criação, pupas recém-formadas (≤ 48 h de idade) de *T. molitor* foram confinadas com sete fêmeas do parasitoide em tubos de vidro semelhantes aos descritos anteriormente. As pupas parasitadas foram mantidas à temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas até a emergência dos adultos (VARGAS et al., 2011).

2.4 *Diatraea flavipennella* (Box, 1931) (Lepidoptera: Crambidae)

A criação de *D. flavipennella* foi estabelecida a partir de lagartas e pupas coletadas em canaviais da Usina Olho d'Água, município de Camutanga

(7°25'07.2"S,35°15'31.2"W), e da Usina São José, município de Igarassu (7°49'03.7"S 35°00'40.4"W), ambas no estado de Pernambuco.

No laboratório, as lagartas foram alimentadas até a fase de pupa com dieta artificial constituída basicamente por farelo de soja, germe de trigo, vitaminas, sais minerais, àgar, colmo de cana-de-açúcar e anticontaminantes (HENSLEY et al., 1968; ARAÚJO, 1985; GARCIA et al., 2009). As pupas foram transferidas para recipientes plásticos (26x17x8 cm) contendo papel filtro e algodão umedecido até a emergência dos adultos. Estes alimentados com solução aquosa de mel a 10% foram mantidos sob condições controladas ($22 \pm 1^\circ\text{C}$; $70 \pm 10\%$ de UR; e fotofase de 12h) em gaiolas cilíndricas de PVC (21x15 cm) revestidas internamente com papel sulfite que serviu como substrato para oviposição.

Após desinfestação superficial em solução de sulfato de cobre a 3% por 3 minutos, formol a 7% por 3 minutos e enxágue em água destilada, os ovos de *D. flavipennella* foram acondicionados em placas de Petri (15x2 cm) sob condições controladas ($28 \pm 1^\circ\text{C}$; $70 \pm 10\%$ de UR; e fotofase de 12h) até a emergência das lagartas. Utilizando pincel de cerdas macias, grupos de dez lagartas neonatas foram transferidos para tubos de vidro de fundo chato que continha 20 mL de dieta artificial de alimentação, onde permaneceram até o terceiro instar. Posteriormente, as lagartas foram transferidas para caixas plásticas (30x18x4cm) contendo dieta de realimentação, onde permaneceram até a fase de pupa.

As pupas e lagartas de *D. saccharalis* foram cedidas pela Associação de Plantadores de Cana da Paraíba (ASPLAN) localizada no Distrito de Pitanga da Estrada, Mamanguape – PB. Sendo então acondicionadas em placas de Petri (60 x 16 mm), até ao Laboratório para a realização do experimento.

2. 5 Desenvolvimento Experimental

2.5 1 Parasitismo de lagartas e pupas de *Diatraea flavipennella* e *Diatraea saccharalis*

Bioensaio I – Lagartas de segundo, terceiro, quarto e quinto instares e pupas recém-formadas ($\leq 48\text{h}$ de idade) de *D. flavipennella* foram individualizadas com uma fêmea de *T. howardi* ($\leq 48\text{h}$ de idade), durante 24 horas em placas de Petri (10x1,5cm). Tais instares foram definidos como o tempo médio (dias após a eclosão: DAE) que lagartas neonatas ($n = 50$), observadas diariamente sob estereomicroscópio, demoraram

para atingir o instar subsequente, a saber: 12, 16, 22 e 27 DAE para passar ao segundo, terceiro, quarto e quinto instares, respectivamente. Neste experimento, nem as lagartas nem os parasitoides receberam qualquer alimento durante o período de exposição ao parasitismo. As placas de Petri foram mantidas sob condições controladas ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; $70 \pm 10\%$ de umidade relativa; e fotofase de 12h) e, após 24 horas de parasitismo, as pupas de *D. flavipennella* foram transferidas para tubos de vidro fechados com algodão hidrofóbico, enquanto as lagartas passaram a ser alimentadas com dieta artificial.

Tendo em vista que *T. howardi* parasita e se desenvolve em diferentes instares de *D. saccharalis*, além da fase de pupa (VARGAS et al., 2013), avaliou-se a mortalidade das pupas e lagartas expostas ou não (tratamento controle) ao parasitismo após quinze dias do estabelecimento do experimento. Nesse intervalo, lagartas ou pupas não parasitadas já teriam passado para o próximo instar ou emergido como adultos da broca, respectivamente. Esse experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos, representados por lagartas de diferentes instares (segundo, terceiro, quarto e quinto) e pupas de *D. flavipennella* expostas individualmente ao parasitismo por uma fêmea de *T. howardi*. Os tratamentos com lagartas foram conduzidos com 40 repetições, enquanto o tratamento com pupas foi estabelecido com 50 repetições. A porcentagem de parasitismo (% de hospedeiros que não passaram para o próximo instar ou fase no intervalo de 15 dias), duração do ciclo de vida (ovo-adulto) em dias, produção de descendentes e razão sexual da progênie ($RS = n^\circ \text{ de fêmeas} / n^\circ \text{ de fêmeas} + n^\circ \text{ de machos}$) foram avaliadas.

Bioensaio II – Os resultados do experimento anterior destoaram de estudos prévios com *D. saccharalis* que apontam a capacidade de *T. howardi* de parasitar duas fases desse hospedeiro (lagarta e pupa) (VARGAS et al., 2013). Como nesses estudos o período de exposição das lagartas ao parasitismo foi de 96h, estabelecemos um novo bioensaio incluindo *D. flavipennella* e *D. saccharalis* no qual lagartas do segundo ao quinto instares foram confinadas por 96h com fêmeas de *T. howardi* individualizadas em tubos de vidro (10x1,5cm) contendo aproximadamente 0,5 ml da mesma dieta empregada na criação das brocas. Esse experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos (diferentes instares) independentes para cada espécie de broca, sendo cada um representado por 50 lagartas de segundo, terceiro, quarto e quinto instares de *D. flavipennella* ou *D. saccharalis* expostas individualmente ao parasitismo por uma fêmea de *T. howardi* durante 96h.

Em ambos os testes (I e II), empregaram-se como tratamento controle 10 lagartas de cada instar ou 10 pupas confinadas sob as mesmas condições prévias, exceto pela não exposição ao parasitismo.

2.5 2 Parasitismo de lagartas e pupas de *Diatraea flavipennella* por *Tetrastichus howardi* com e sem chance de escolha

A partir do experimento anterior, observando o baixo parasitismo de lagartas por *T. howardi*, levantamos a hipótese de que essa espécie parasita preferencialmente pupas da broca. Para testá-la, submetemos fêmeas de *T. howardi* a um bioensaio com e sem chance de escolha entre lagartas de quinto instar e pupas de *D. flavipennella*. Em delineamento inteiramente casualizado, fêmeas de *T. howardi* foram confinadas individualmente em placas de Petri (5,5x1,5cm) contendo: *i*) somente lagartas; *ii*) somente pupas; e *iii*) lagartas e pupas da broca da cana-de-açúcar. Os tratamentos *i* e *ii* foram estabelecidos com 15 repetições, enquanto o tratamento *iii* foi constituído por 25 repetições, sendo cada repetição representada por uma lagarta, uma pupa ou uma lagarta e uma pupa confinada com uma fêmea de *T. howardi* por 24h, respectivamente.

Esse bioensaio foi conduzido em sala climatizada ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$; $70\pm 10\%$ de umidade relativa; e fotoperíodo de 12h de luz fluorescente e 12h de luz infravermelha, a qual permitiu observar o comportamento do parasitoide mesmo durante a escotofase). Durante 24h ininterruptas, observaram-se diversos parâmetros comportamentais do parasitoide, incluindo: primeiro hospedeiro escolhido, tempo até a primeira escolha, número de vezes que a fêmea do parasitoide inseriu o ovipositor no hospedeiro e o tempo que a mesma permaneceu com o ovipositor inserido. Em seguida, as lagartas e pupas foram transferidas para tubos de vidro fechados com algodão hidrófobo, sendo as primeiras alimentadas com porções de dieta artificial até a fase de pupa. Os descendentes de *T. howardi* foram contabilizados e pela observação em microscópio estereoscópico dos caracteres morfológicos externos, foram separados pelo sexo para determinação da razão sexual definida como a proporção de fêmeas.

2.5 3 Parasitismo de lagartas e pupas de *Diatraea flavipennella* em mudas de cana-de-açúcar

Uma vez que o experimento anterior apontou preferência de *T. howardi* por pupas de *D. flavipennella* comparadas a lagartas ofertadas em placas de Petri, estabeleceu-se

outro bioensaio para verificar se tal comportamento também se repetiria em mudas de cana-de-açúcar. Para tanto, mudas de cana-de-açúcar de aproximadamente 50 dias de idade (40 cm de altura), cultivadas em casa de vegetação em potes plásticos de 2,5L foram transferidas para o laboratório, onde se procedeu a infestação com lagartas de quinto instar e pupas da praga. Tanto as lagartas quanto as pupas foram introduzidas em orifícios (1,0 cm de profundidade) realizados com furadeira no coleto das plantas, as quais foram acondicionadas em gaiolas de acrílico transparente (50x45x32 cm) dotadas de aberturas laterais cobertas com tecido voil para favorecer a ventilação. Cada gaiola recebeu seis mudas de cana-de-açúcar, sendo três infestadas com uma lagarta de quinto instar e três infestadas com uma pupa de *D. flavipennella* de 24h de formação. No dia seguinte à infestação foram liberadas seis fêmeas de *T. howardi* (\leq 48h de idade, copuladas e alimentadas) por gaiola, assim representando uma fêmea por hospedeiro.

O experimento foi conduzido com múltipla chance de escolha com fatorial no tempo consistindo de avaliações de 24, 48 e 72 horas e 10 repetições por intervalo, sendo cada repetição constituída por uma planta infestada com uma lagarta ou uma pupa de *D. flavipennella*. As lagartas e pupas recuperadas a cada intervalo foram acondicionadas em tubos de vidro de fundo chato (7,5 x 2,5cm) vedados com algodão, sendo as lagartas alimentadas com dieta artificial até a fase de pupa. Sob condições controladas, os tubos foram observados diariamente quanto à mortalidade dos hospedeiros e à emergência de descendentes da praga ou do parasitoide. Neste caso, a mortalidade foi determinada como sendo os eventos de parasitismo confirmado (com emergência do parasitoide), mortalidade do hospedeiro (sem emergência do parasitoide) e mortalidade total (parasitismo confirmado + mortalidade do hospedeiro).

2. 6 Análise estatística

A porcentagem de parasitismo de lagartas de *D. flavipennella* e *D. saccharalis* confinadas com uma fêmea de *T. howardi* por 96h, emergência, progênie e razão sexual foram submetidas à análise de variância pelo Proc ANOVA do SAS (SAS Institute 2001).

Os dados de primeira escolha entre lagartas e pupas de *D. flavipennella* por *T. howardi* durante 24h de observação foram analisados pelo teste de qui-quadrado (ProcFreq, SAS Institute 2001) a 5% de probabilidade, considerando os 24 parasitoides que escolheram algum dos hospedeiros como a estimativa esperada.

A mortalidade de lagartas de quinto instar e pupas de *D. flavipennella* confinadas por 24, 48 e 72h com fêmeas de *T. howardi* em mudas de cana-de-açúcar foi submetida a comparações de igualdade (50%:50%) através do ProcFreq do SAS (SAS Institute 2002) e interpretada pelo teste de qui-quadrado ($\alpha = 0,05$).

3. RESULTADOS

1. Parasitismo de lagartas e pupas de *Diatraea flavipennella* e *Diatraea saccharalis*

Nenhuma lagarta de segundo, terceiro, quarto ou quinto instar de *D. flavipennella* foi parasitada por *T. howardi* no intervalo de 24h. Por outro lado, o parasitismo de pupas de *D. flavipennella* e *D. saccharalis* submetidas às mesmas condições atingiu $92,0 \pm 3,88\%$ e $87,5 \pm 5,30\%$ e 100% de emergência em ambos os hospedeiros respectivamente. Devido ao sucesso de parasitismo de pupas em 24h, não as incluímos no segundo bioensaio, onde o período de exposição se estendeu por 96h. De cada pupa de *D. flavipennella* parasitada emergiram em média $53,5 \pm 3,96$ descendentes, sendo o período de desenvolvimento de $21,9 \pm 0,52$ dias e a razão sexual (expressa como a proporção de fêmeas) de $0,91 \pm 0,03$. Das pupas de *D. saccharalis* emergiram em média $60,4 \pm 2,47$ parasitoides, os quais apresentaram período de desenvolvimento de $19,1 \pm 0,13$ dias e razão sexual de $0,95 \pm 0,00$.

No segundo bioensaio, no qual lagartas das duas espécies são elas, *D. saccharalis* e *D. flavipennella* foram confinadas com o parasitoide por 96h, o parasitismo de lagartas de segundo, terceiro, quarto e quinto instares de *D. flavipennella* atingiu $14,0 \pm 5,17\%$, $4,0 \pm 2,92\%$, $6,0 \pm 3,54\%$ e $12,0 \pm 4,84\%$, respectivamente, não havendo diferença significativa entre os tratamentos ($F_{3,196} = 1,38$; $P = 0,2486$). Apesar da mortalidade de lagartas de segundo instar, estas parecem não suportar o desenvolvimento do parasitoide, uma vez que não deram origem a nenhum descendente. Em contrapartida, lagartas de terceiro, quarto e quinto instares originaram em média $1,0 \pm 0,00$, $37,3 \pm 9,68$ e $48,7 \pm 13,21$ indivíduos com razão sexual de $1,0 \pm 0,00$, $0,92 \pm 0,02$ e $0,93 \pm 0,01$, respectivamente.

O parasitismo de lagartas de segundo, terceiro e quarto instares de *D. saccharalis* por *T. howardi* foi nulo, mesmo quando confinados por 96h. Já o parasitismo de lagartas de quinto instar atingiu $12,5 \pm 5,29\%$ com $100 \pm 0,0\%$ de emergência, emergindo em média $61,6 \pm 14,08$ descendentes por pupa com razão sexual de $0,95 \pm 0,01$.

2. Comportamento de parasitismo de *Tetrastichus howardi* com e sem chance de escolha

No teste sem chance de escolha, $53,3 \pm 13,33\%$ das lagartas e $93,3 \pm 6,67\%$ das pupas de *D. flavipennella* foram parasitadas por *T. howardi*, mas apenas as pupas originaram descendentes do parasitoide (Tabela 1). No bioensaio com chance de escolha a primeira escolha resultou 92% de pupas e apenas 8,3% de lagartas ($\chi^2 = 12,0401$; $GL = 1$; $P < 0,001$). Novamente, apenas pupas parasitadas deram origem à descendentes de *T. howardi*.

3. Parasitismo de lagartas e pupas de *Diatraea flavipennella* em mudas de cana-de-açúcar

Ao longo das três avaliações (24, 48 e 72h), os eventos de parasitismo confirmado, mortalidade do hospedeiro e mortalidade total mantiveram o mesmo resultado estatístico de superioridade dos eventos sobre pupas comparados aos de lagartas ($P < 0,05$). Assim, apenas o resultado considerando as três avaliações conjuntas é apresentado na Figura 1. O parasitismo de pupas e lagartas de *D. flavipennella* por *T. howardi*, confirmado pela emergência de parasitoides, foi apenas numericamente superior em pupas (6/30 vs. 2/30; $P = 0,0592$). Por outro lado, a mortalidade de pupas sem emergência de parasitoides foi superior à de lagartas (14/30 vs. 7/30; $P = 0,0449$), bem como a mortalidade total de hospedeiros (20/30 vs. 9/30; $P = 0,0007$), correspondendo a 66,8% de pupas e 30,0% de lagartas mortas. Portanto, 70% das lagartas deram origem a adultos de *D. flavipennella*, enquanto apenas 33% das pupas originaram adultos da praga, mesmo sendo um estágio mais avançado do desenvolvimento.

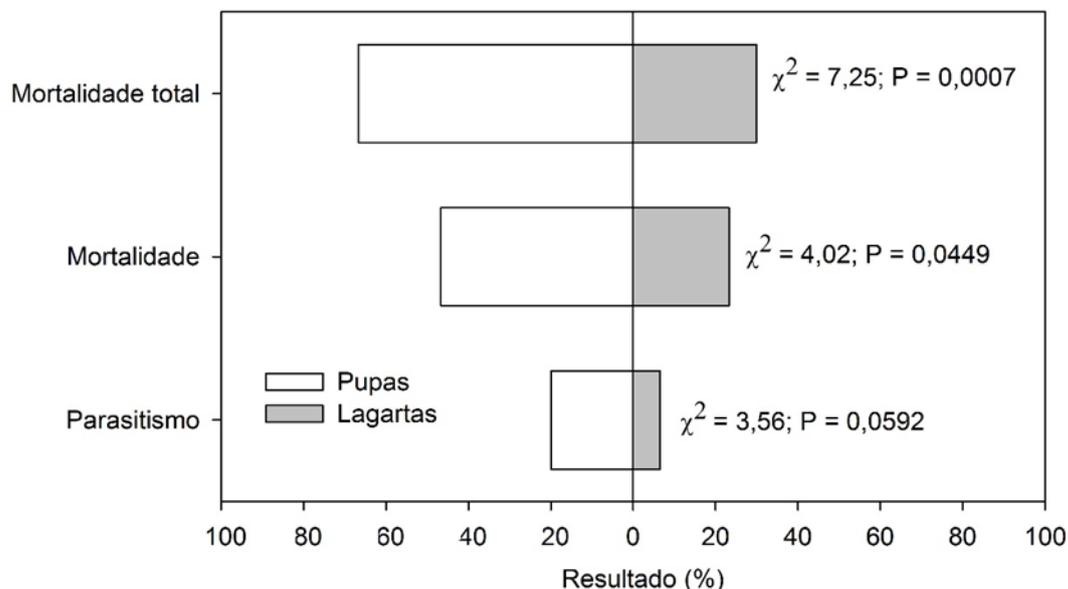


Figura 1. Parasitismo de lagartas de quinto instar e pupas de *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae) confinadas por 24, 48 e 72h com fêmeas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em mudas de cana-de-açúcar.

4. DISCUSSÃO

Uma fêmea de *T. howardi* não obteve sucesso de parasitismo em lagartas independente do instar de *D. flavipennella* e *D. saccharalis* em um intervalo de 24h de exposição. Isso se deve possivelmente devido as estratégias de defesas que as lagartas de lepidópteros possuem, podem ser usadas antes, durante e depois do contato com seus inimigos naturais. São elas defesas químicas, imunológicas, fisiológicas, morfológicas e comportamentais (GREENEY et al., 2012).

Para discutir tais resultados, vale ressaltar a defesa imunológica das lagartas frente ao parasitismo. Provavelmente a quantidade de toxina injetada no hospedeiro pela fêmea adulta do parasitoide, combinado com o período de parasitismo foram insuficiente para neutralizar o sistema imune do hospedeiro, já que estes possuem um potente sistema imunológico celular, onde é capaz de encapsular, neutralizar, fagocitar ou remover ovos de parasitoides, sendo mais eficaz na defesa contra seus inimigos naturais ou patógenos (LAVINE et al., 1995; SMILANICH et al., 2009a; GREENEY et al., 2012). Dentre esses fatores de defesas, provavelmente houve o encapsulamento das posturas do parasitoide por parte do hospedeiro, pois é uma defesa chave que é realizada por vários grupos de células como os hemócitos, ocorrendo imediatamente dentro da hemolinfa do hospedeiro. Isso foi observado em *C. flavipes*, onde suprimiu a defesa

imunológica celular e humoral de *D. flavipennella*. Em lepidópteros os hemócitos primários circulantes são células como os plasmatócitos, granulócitos e entre outros (LAVINE et al., 2002; STRAND, 2008; PASSOS et al., 2014).

Além disso, o aumento da densidade do parasitoide por hospedeiro se faz necessário para inibir a ação dos hemócitos e conseqüentemente o parasitoide conseguir ter sucesso no desenvolvimento, isso foi confirmado em lagartas de terceiro instar de *D. saccharalis*, onde o aumento do número de fêmeas de *T. howardi* aumentou o número de parasitismo (VARGAS, 2013), porém neste experimento foi considerada somente uma fêmea por hospedeiro. Isso foi confirmado de maneira similar na imunidade de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Erebidae) que foi suprimida com o aumento das densidades dos parasitoides *Trichospilus diatraeae* (Cherian & Margabandhu, 1942) (Hymenoptera: Eulophidae) e *Palmistichus elaeisis* (Delvare & La Salle, 1993) (Hymenoptera: Eulophidae) (ANDRADE et al., 2010).

Porém, quando se repetiu o experimento, mas com 96 horas de exposição, houve parasitismo de lagartas de *D. flavipennella* e *D. saccharalis* por *T. howardi*. Isso demonstrou que uma fêmea do parasitoide é capaz de interromper o ciclo de vida desse lepidóptero, pois nesse período de exposição o parasitoide conseguiu êxito no parasitismo. O parasitismo se deu possivelmente devido as toxinas que foram injetadas diversas vezes, somadas com o período de 96 horas de exposição hospedeiro/parasitoide, onde suprimiu a defesa do hospedeiro, além da oviposição.

Isso pode ser verificado pela mudança na coloração das lagartas, ficando com aspecto escuro, além de permanecerem sésseis. Isso indica fortemente que ocorreu por conta do processo de parasitismo por esse himenóptero durante à oviposição no hospedeiro, podem ser elas: aminas, peptídios, proteínas e glicoproteínas (DOURY et al., 1997; COUDRON et al., 2000; UCKAN et al., 2004). Quanto ao período, foi confirmada a maior taxa de parasitismo por *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Eulophidae) nas traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Plutellidae) após 72h. O período de exposição é importante para atingir os níveis mais elevados de parasitismo (SILVA-TORRES et al., 2011).

Hospedeiros parasitados são induzidos a ter uma resposta imune, o que pode resultar na formação de uma barreira melanizada em volta das posturas do parasitoide, o que acaba tendo efeito de cessar o desenvolvimento do mesmo. Então, para driblar essa defesa do hospedeiro, os parasitoides desenvolveram diferentes estratégias de desenvolvimento, uma delas as toxinas como já mencionadas, onde agem em conjunto,

sendo um fator importante, pois é à base do sucesso do parasitismo, devido à capacidade de regular a fisiologia do hospedeiro, ou seja, preparar o ambiente para que seus descendentes tenham êxitos no desenvolvimento (MANZLOOR et al., 2016; COLINET et al., 2013).

Em lagartas de segundo instar, houve somente a confirmação da mortalidade, não sendo possível atestar emergência ou imaturo do parasitoide no interior do hospedeiro, ou seja, o parasitoide não completou seu ciclo de vida (ovo-adulto). Isso pode ser devido ao fato de lagartas de segundo instar não apresentar nutrientes suficientes para o desenvolvimento do parasitoide, uma vez que este eulophídeo se desenvolve de forma gregária. É possível também que as toxinas liberadas no momento da oviposição acarretaram essa mortalidade. Uma vez que porcentagem de mortalidade também é observada em larvas de segundo instar de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Tephritidae), atingindo 86%, indicando assim, que estas larvas não são adequadas para criação de *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead, 1905) (Hymenoptera: Braconidae) (VAN et al., 2011).

O número elevado de pupas parasitadas (acima de 87%) em ambas as espécies, *D. flavipennella* e *D. saccharalis* se deu somente por uma fêmea de *T. howardi*, demonstrando assim, alto potencial biológico deste parasitoide no processo de parasitismo. Muitas espécies de parasitoides, além da capacidade de regular seus hospedeiros, têm preferência de parasitar fases específicas de desenvolvimento, aspectos comportamentais que ainda não estão bem esclarecidos, dificultando assim, o entendimento da interação de parasitoide e hospedeiro (HE et al., 2011; JERVIS et al., 2012). Porém os resultados demonstram que *T. howardi* consegue parasitar e se desenvolver com sucesso na fase de pupa do hospedeiro. Percebe-se facilidade de parasitismo e desenvolvimento, visto que os movimentos da pupa são limitados, podendo muitas vezes até permanecer sésil durante a oviposição do parasitoide, enquanto que lagartas, o movimento é intenso, além de se defender com as mandíbulas do parasitoide, permanecem no interior do colmo, obstruindo o orifício com dejetos, dificultando a localização pelo parasitoide (CÔNSOLI et al., 2009; GREENEY et al., 2012). Nota-se também que os imaturos do parasitoide exploram muito bem os recursos nutricionais das pupas, visto que após a emergência dos adultos, as pupas ficaram sem nenhum resquício de material no seu interior.

A razão sexual (predominância de fêmeas em relação a população/progênie total) da progênie de *T. howardi* em lagartas ou pupas de *D. flavipennella* ou em *D.*

saccharalis apresentaram médias superiores a 0,91. Esse parâmetro é relevante para o controle biológico, demonstrando grande quantidade de fêmeas, pois são as fêmeas parasitoides que parasitam os hospedeiros, reduzindo assim a densidade populacional dos insetos-praga (RODRIGUES et al., 2013; COSTA et al., 2014).

Fêmeas parasitoides ao longo do tempo coevoluíram com seus respectivos hospedeiros, fato que possibilitou estes organismos explorar com maior facilidade fases específicas, que no caso do *T. howardi* parece ser a pupa do hospedeiro. Tendo esse direcionamento, o parasitismo e desenvolvimento são maiores se comparado com outras fases, isso possivelmente porque o parasitoide consegue driblar com maior facilidade o sistema imune de seu hospedeiro e aproveitando o máximo dos recursos nutricionais (KAESLIN et al., 2005).

No teste para avaliar preferência de parasitismo por *T. howardi* em lagarta ou pupas de *D. flavipennella* com e sem chance de escolha num intervalo de 24h de observação contínua, foram observados algumas características biológicas deste parasitoide como: primeira escolha (preferência), tempo até a primeira oviposição, número de oviposições, tempo total de parasitismo, número de descendentes e razão sexual. Feito o teste, foi confirmado que *T. howardi* parasita em maior quantidade pupa, chegando $93,3 \pm 6,67$ e $92,0 \pm 5,54$ % sem e com chance de escolha respectivamente, enquanto que para as fases de lagarta atingiu $53,3 \pm 13,33$ e $8,0 \pm 5,54$ sem e com chance de escolha respectivamente. Esse resultado nos permite evidenciar que *T. howardi* parasita e se desenvolve com sucesso em pupa de *D. flavipennella*, onde possivelmente as toxinas liberada pelo parasitoide antes ou durante a oviposição foram suficientes para suprimir o sistema imune da pupa. Fato este que pode estar relacionado com a coevolução deste parasitoide com seu hospedeiro, fato ainda não muito esclarecido, mas provavelmente o parasitoide se especializou ao longo do tempo em parasitar determinada fase, explicando assim, a alta preferência de escolha por pupa, pois nessa fase os imaturos do parasitoide conseguem explorar muito bem os recursos nutricionais da pupa (KAESLIN et al., 2005; HE et al., 2011; JERVIS et al., 2012). Resultado similar foi obtido por Vargas (2013), onde *T. howardi* parasitou duas fases (lagarta e pupa) do hospedeiro, porém em maior quantidade a fase de pupa.

Quanto à escolha de parasitismo e desenvolvimento em lagarta, mesmo se confirmando que *T. howardi* parasitou, mas não obteve sucesso no desenvolvimento do mesmo, isso indica que provavelmente uma fêmea do parasitoide foi insuficiente para suprimir o sistema imune da lagarta, pois o mesmo não teve um direcionamento de

parasitismo para esta fase do desenvolvimento do hospedeiro ao longo do tempo, o que provavelmente precisaria de uma densidade maior de fêmeas, outro fator foi o intervalo de tempo de exposição, visto que foi considerado 24 horas, além do fato que as lagartas se defendem com as mandíbulas quando em contato com o parasitoide (CÔNSOLI et al., 2009; GREENEY et al., 2012).

Os resultados de parasitismo de *D. flavipennella* em mudas de cana nos faz entender que o parasitoide localiza e parasita com confirmação de emergência em ambos, lagartas e pupas, nas condições de estudo. Cabe destacar que o parasitoide preferiu a fase de pupa de *D. flavipennella* onde numericamente foi superior a de lagarta (6/30 vs. 2/30; $P = 0,0592$) respectivamente. Não teve diferença significativa, possivelmente pela quantidade de repetições considerada neste experimento, uma vez que se tivesse um acréscimo no número, talvez o resultado divergiria do apresentado.

Considerando a mortalidade total do hospedeiro, (20/30 vs. 9/30; $P = 0,0007$), onde corresponde a 66,8% de pupas e 30,0% de lagartas. Isso demonstra a capacidade deste parasitoide em influenciar principalmente a viabilidade de pupa, mesmo não originando progênie o fato de causar mortalidade no seu hospedeiro já é de grande valia para a supressão populacional do hospedeiro, pois interrompe o seu ciclo de vida.

Ainda, vale ressaltar que entre as fases de desenvolvimento da praga, a mortalidade de pupa possui grande impacto visto que as fases anteriores já foram expostas a fatores de reposição de mortalidade, nesse sentido, *T. howardi* entra como um complemento aditivo ao controle biológico já estabelecido, com outros agentes, dentre eles, o parasitoide larval *Cotesia flavipes* e de ovos *Trichogramma galloi*, onde *T. howardi* irá agir preferencialmente na fase de pupa da praga, justamente naquelas que escaparam do parasitismo, tendo maior impacto no aumento da população da praga (BARBOSA et al., 2019). Portanto, 70% das lagartas deram origem a adultos de *D. flavipennella*, enquanto apenas 33% das pupas originaram adultos da praga.

Como resumo, os resultados com *T. howardi* parasitando e se desenvolvendo em *D. flavipennella* nos permite inferir que este parasitoide pode ser um agente de controle biológico complementar no Programa de Controle Biológico já estabelecido, como o uso de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) para o controle de brocas do gênero *Diatraea*. Futuros estudos de dispersão, números de pontos em função da fenologia da planta, quantidade por hectare em função da infestação, número de liberações (seja inoculativas ou inundativas) deverão ser realizados. Este trabalho

registra o primeiro relato que *T. howardi* parasita e se desenvolve em lagartas e pupas de *D. flavipennella* em condições de laboratório.

5. CONCLUSÃO

Tetrastichus howardi parasita e se desenvolve em pupas de *D. saccharalis* e *D. flavipennella* com exposição de 24 horas.

Tetrastichus howardi apresenta preferência em parasitar pupa em relação à fase de lagarta.

Tetrastichus howardi localiza e parasita pupas e lagartas de *D. flavipennella* em plantas de cana em condições controladas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, S.G.D.; PETERSEN, P.; CORDEIRO, Â. **Crise socioambiental e conversão ecológica da agricultura brasileira: subsídios a formulação de diretrizes ambientais para o desenvolvimento agrícola**, p. 22, 2001.

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

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

BARBOSA, R.H.; PEREIRA, F.F.; MOTOMIYA, A.V.A.; KASSAB, S.O.; ROSSONI, C.; TORRES, J.B.; PASTORI, P.L. *Tetrastichus howardi* density and dispersal toward augmentation biological control of sugarcane borer. **Neotropical Entomology**, p. 1-9, 2019.

COUDRON, T.A.; WRIGHT, M.M.; PUTTLER, B.B.S.L.; RICE, W.C. Effect of the ectoparasite *Necremnus breviramulus* (Hymenoptera: Eulophidae) and its venom on natural and factitious hosts. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 96, p. 890-897, 2000.

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

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

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, p. 961-966, 2014b.

DOURY, G.; BIGOT, Y.; PERIQUET, G. Physiological and biochemical analysis of factors in the female venom gland and larval salivary secretions of the ectoparasitoid wasp *Eupelmus orientalis* (Crawford, 1913) (Hymenoptera: Eupelmidae) **Journal of Insect Physiology**, v. 43, p. 69-81, 1997.

FAVERO, K.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; OLIVEIRA, H. N.; COSTA, D. P.; ZANUNCIO, J. C. Biological characteristics of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) are influenced by the number of females exposed per pupa of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Florida Entomologist**, v. 96, p. 583-589, 2013.

GREENEY, H.F.; DYER, L. A.; SMILANICH, A.M. Feeding by lepidopteran larvae is dangerous: A review of caterpillars' chemical, physiological, morphological, and behavioral defenses against natural enemies. **Invertebrate Survival Journal**, v. 9, p. 7-34, 2012.

HE, X.Z.; WANG, Q.; TEULON, D.A.J. Host Age Preference Behavior in *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Aphidiidae). **Journal of Insect Behaviour**, v. 24, p. 447-455, 2011.

JERVIS, M.A.; MOE, A.; HEIMPEL, G.E. The evolution of parasitoid fecundity: a paradigm under scrutiny. **Ecology Letters**, v. 15, p. 357-364, 2012.

KAESLIN, M.R.; PFISTER-WILHELM, R.; MOLINA, D.; LANZEREIN, B. Changes in the hemolymph proteome of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) induced by the parasitoid *Chelonus inanitus* (Hymenoptera: Braconidae) or its polydnavirus and physiological implications. **Journal of Insect Physiology**, v.1, p. 975-988, 2005.

LAVINE, M.D.; BECKAGE, N.E. Polydnviruses: potent mediators of host insect immune dysfunction. **Parasitology Today**, v. 11, p. 368-378, 1995.

LAVINE, M.D.; STRAND, M.R. Insect hemocytes and their role in immunity. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 13, p. 1295-1309, 2002.

MARQUES, E.J.; LIMA, R.O.R .; OLIVEIRA, J.V. **Pragas da cana-de-açúcar: nordeste do Brasil**. EDUFRPE, p. 54, 2009.

MAHMOUD, A.M.A.; LUNA-SANTILLANA, E.J.; GUO, X.; REYES-VILLA, N.F.; RODRÍGUEZ-PÉREZ, M.A. Development of the braconid wasp *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) in two *Diatraea saccharalis* and *Eoreuma loftini* (Lepidoptera: Crambidae) Evidence of host developmental disruption. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 15, p. 63-68, 2012.

MANZOOR, A.; ULABDIN, Z.; WEBB, B.A.; ARIF, M.J.; JAMIL, A. De novo sequencing and transcriptome analysis of female venom glands of ectoparasitoid *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae). **Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics**, v. 20, p. 101-110, 2016.

MENDONÇA, A. F. **Guia das principais pragas da cana-de-açúcar**. Insetos & Cia, p. 239, 1996.

OLIVEIRA, F. G. **Multiplicação de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) e de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)**. 2013. 53p. Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) - Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2013.

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

PANIZZI, A.R.; PARRA, J.P. **Introdução à bioecologia e nutrição de insetos como base para o manejo integrado de pragas**. Embrapa Soja-Capítulo em livro científico (ALICE), p. 202-220, 2009.

PASSOS, E.M; WANDERLEY-TEIXEIRA, V; MARQUES, E.J; TEIXEIRA, A.A.C; BRAYNER, F.A. *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) supresses immune responses in *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae). **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, v. 86, p. 2013–2024, 2014.

PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; SERRÃO, J. E.; OLIVEIRA, H. N.; FÁVERO, K.; GRANCE, E. L. Progeny of *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) parasitising pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) of different ages. **Neotropical Entomology**, v. 38, p. 660-664, 2009.

PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; VARGAS, E. L.; CALADO, V. R. F.; OLIVEIRA, H. N.; ZANUNCIO, J. C. Parasitism and emergence of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on the caterpillars, pupae and adults of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **The Florida Entomologist**, v. 95, p. 384-387, 2015.

PIÑEYRO, N. G.; PEREIRA, F. F.; BORGES, F. L. G.; ROSSONI, C.; SILVA, A. S.; KASSAB, S. O. Multiplicar *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) en la oruga de la seda afecta su biología?. **Acta Biológica Colombiana**, v. 21, p. 189-193, 2016.

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 Brazil. **Florida Entomologist**, v. 96, p. 154-159, 2013.

STRAND, M.R. The insect cellular immune response. **Insect Science**, v. 15, p. 1-14, 2008.

SMILANICH, A.M.; DYER, L.A.; GENTRY, G.L. The insect immune response and other putative defenses as effective predictors of parasitism. **Ecology**, v. 90 p. 1434-1440, 2009.

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

SILVA, C.C. Aspectos do sistema imunológico dos insetos. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v.24, p.68-72, 2002.

SILVA-TORRES, C.S.A.; TORRES, J.B.; PALLINI, R.B.A. Parasitismo de traça-das-crucíferas por *Oomyzus sokolowskii*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, p. 638-645, 2011.

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

UÇKAN, F.; ŞŞNAN, S., SAVAŞCI, Ş.; ERGIN, E. Determination of venom components from the endoparasitoid wasp *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 97, p. 775-780, 2004.

VAN, N.; GUIDO, A.; OVRUSKI, S.M. Influence of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) larval instars on the production of *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) progeny and their sex ratio. **Florida Entomologist**, v. 94, p. 863-868, 2011.

VAN LENTEREN, J.C.; BOLCKMANS, K.; KÖHL, J.; RAVENSBERG, W.J.; URBANEJA, A. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. **BioControl**, v. 63, p. 39-59, 2018.

VARGAS, E. L.; PEREIRA, F. F.; TEXEIRA, M. T.; PASTORI, P. L. Record of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Diatraea* sp.

(Lepidoptera: Crambidae) in sugarcane crop in Brasil. **Entomotropica**, v. 26, p. 143-146, 2011.

VACARI, A.M.; BERTOLI, S.A.; BORBA, D.F.; MARTINS, M.I.E.G. Quality of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) reared at different host densities and the estimated cost of its commercial production. **Biological**, v. 63, p. 102-106, 2012.

VARGAS, E.L. **Parasitismo e desenvolvimento de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em lagarta e pupa de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)**. 2013. 88p. Tese (Doutorado em agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2013.

ZACHÉ, B.; WILCKEN, C. F.; COSTA, R. R.; SOLIMAN E. P. *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae), a new parasitoid of *Melanolophia consimilaria* (Lepidoptera: Geometridae). **Phytoparasitica**, v. 38 p. 355–357, 2010.

Tabela 1. Parâmetros comportamentais e biológicos de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitando lagartas e/ou pupas de *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae) com e sem chance de escolha, durante 24h ininterruptas de observação.

Tratamentos	Hospedeiros	Tempo até a 1 ^a oviposição (h)	Inserção do ovipositor (%)*	Nº. de oviposições	Tempo total de parasitismo (h)	Nº. de descendentes	Razão sexual
Sem chance de escolha	Lagarta	10,8 ± 3,24	53,3 ± 13,33	1,7 ± 0,49	0,28 ± 0,08	–	–
	Pupa	5,8 ± 2,06	93,3 ± 6,67	3,4 ± 0,54	5,38 ± 1,21	33,0 ± 8,65	0,96 ± 0,01
Com chance de escolha	Lagarta	15,5 ± 8,10	8,0 ± 5,54	1,3 ± 0,18	0,28 ± 0,15	–	–
	Pupa	5,7 ± 1,46	92,0 ± 5,54	2,6 ± 0,23	4,4 ± 0,77	44,2 ± 5,18	0,95 ± 0,01

* Porcentagem de hospedeiros nos quais o parasitoide inseriu o ovipositor.

Capítulo II

Longevidade de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) sob diferentes condições de alimentação e temperatura

RESUMO

O desempenho biológico dos insetos é diretamente influenciado pelas variações de temperatura e alimento, portanto sendo determinante para o seu sucesso reprodutivo. O objetivo deste trabalho foi avaliar a longevidade de adultos de *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) submetidos a diferentes condições de temperatura e alimentação. Os experimentos foram conduzidos combinando condições de laboratório e campo. O experimento foi constituído por sete diferentes temperaturas, sendo cinco temperaturas constantes de 18, 20, 25, 28 e 32°C e fotofase de 12 horas, em laboratório; ou sob temperatura ambiente de duas épocas do ano, na zona canvieira de Pernambuco (Zona da Mata de Pernambuco): inverno chuvoso com média de 25,9°C (variando de 18,8–36,4 °C) e verão seco 28,9°C (variando de 20,8–40,2°C) e três condições de alimentação: não alimentados, alimentados por 24 horas e alimentados diariamente. A longevidade dos parasitoides foi inversamente proporcional ao aumento da temperatura, independente da condição de alimentação, do mesmo modo independente da temperatura de acondicionamento, parasitoides alimentados diariamente apresentaram maior longevidade que aqueles alimentados por 24 horas, os quais, em alguns casos, apresentaram longevidade similar aqueles não alimentados. Nota-se, que à medida que se aumenta a temperatura de 18 a 32°C, os parasitoides não alimentados, alimentado uma vez ou diariamente, tiveram sua longevidade diminuída de 6,7 para 3,8 de 7,8 para 3,8 e de 83,3 para 13,4 dias, respectivamente. Nas condições de campo, onde a média de temperatura foi de 25,9 e 28,9°C, a longevidade de *T. howardi* foi de $7,1 \pm 0,26$ e $2,5 \pm 0,10$ dias, alimentado apenas uma vez. Concluímos que *T. howardi* quando submetido à flutuação térmica de 18 a 40°C apresenta sua longevidade afetada, especialmente, nas condições extremas, o que sugere que à liberação e maiores sucessos em campo se dará em regimes térmicos entre 18 e 28 °C. Ainda, os resultados mostram que *T. howardi* pode ser criado e armazenado em temperaturas de 18 ou 20°C por períodos de tempo quando alimentados diariamente visando uma futura liberação ou transporte até a localidade de liberação.

Palavras-chave: Tempo de vida; Eulophidae; Regime térmico.

ABSTRACT

The overall performance of insects suffers direct influences of variations in temperature and food availability, which may be determinant for success of the species. The objective of this work was to evaluate the longevity of *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) submitted to different temperatures and feedings simulating possible conditions to release. The experiments were conducted combining laboratory and field conditions. The experiment consisted of five constant temperatures in the laboratory 18, 20, 25, 28 and $32 \pm 2^\circ\text{C}$ and 12h photophase; or under temperature of the sugarcane production area in Pernambuco (Zona da Mata) represented by two periods: rainy winter with temperature average of 25.9°C (ranging from $18.8\text{-}36.4^\circ\text{C}$) and dry summer with temperature average of 28.9°C (ranging from $20.8\text{-}40.2^\circ\text{C}$) and three feeding conditions using pure honey: without feeding, feeding during 24 hours prior using in the study, feeding daily during the whole studied period. The longevity of the parasitoids was inversely proportional to the increase of temperatures, regardless of the feeding regime. Likewise, regardless of temperature conditions, parasitoids fed daily lived longer than those fed only 24 hours, which in some cases exhibited similar longevity to those without feeding at all. Temperature increases from 18 to 32°C resulted in parasitoid longevity without feeding, fed once or fed daily, decreases from 6.7 to 3.8 from 7.8 to 3.8, and from 83.3 to 13.4 days, respectively. Under the field conditions, where the temperature average was 25.9 and 28.9°C , *T. howardi* exhibited longevity of 7.1 ± 0.26 and 2.5 ± 0.10 days, respectively. We can conclude that the longevity of *T. howardi* is affected when subjected to thermal regime from 18 to 40°C , in special at the extreme temperatures. Further, the data suggest that success post-release will be more successful at temperatures varying from 18 to 28°C . Yet, the data showed that *T. howardi* can be sorted at 18 or 20°C for some period aiming future releases or transport to the releasing location.

Keywords: Life time; Eulophidae; Thermal Regime.

1. INTRODUÇÃO

Parasitoides são organismos de grande importância para o equilíbrio dos agroecossistemas, pois tem capacidade de regular população de seus hospedeiros, devido sua eficácia em parasitar e se desenvolver no interior ou sobre eles (VAN et al., 1996; SULLIVAN et al., 1999). Em sua grande maioria os parasitoides pertencem às ordens Hymenoptera e Diptera (GODFRAY, 1994). Espécies de parasitoides distribuídos nas famílias como Eulophidae, Braconidae, Ichneumonidae, Pteromalidae, Encyrtidae e Aphelinida, têm os mais variados tipos de hospedeiros, desde ovos, larvas, pupas ou adultos, com número maior nas ordens Lepidoptera, Coleoptera, Diptera e Hemiptera. Podem ser ectoparasitoides ou endoparasitoides, idiobiontes, cenobionte, gregário ou solitário, são características que representam as famílias com elevado número de parasitoides empregados no controle biológico (VAN et al., 1996; HARVEY et al., 2013).

Tetrastichus howardi (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) é um parasitoide que apresenta grande distribuição geográfica, provavelmente originário da Ásia, presente também na região Neotropical e Afrotropical. É um parasitoide de hábito gregário, com capacidade de parasitar diferentes fases de desenvolvimento do hospedeiro, como lagarta, pupa e emergir em adultos de *D. saccharalis* (LA SALLE et al., 2007; VARGAS et al., 2013; PEREIRA et al., 2015). No Brasil existem pelo menos três registros de sua ocorrência em culturas agrícolas importantes, em lagarta de *Plutella xylostella* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Plutellidae) em plantio de couve (*Brassica oleracea*) em Chã Grande, Pernambuco (SILVA-TORRES et al., 2010); em pupa *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) na cultura do milho (*Zea mays*) Sete Lagoas, Minas Gerais (CRUZ et al., 2011); e em pupa de *D. saccharalis* na cultura da cana-de-açúcar em Dourados, Mato Grosso do Sul (VARGAS et al., 2011).

Tetrastichus howardi apresenta potencial para ser utilizado como complemento no controle biológico de lepidópteros como *D. saccharalis* e *Diatraea flavipennella* (Box, 1931) (Lepidoptera: Crambidae), que é importante praga nas plantações de cana-de-açúcar, provocando perdas na produção por conta de sua infestação (SEGATO et al., 2006; DINARDO-MIRANDA et al., 2012; COSTA, 2013). Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi conhecer a longevidade de *T. howardi* expostos a diferentes condições de temperatura e alimento, visto que para a implementação dos programas de controle

biológico com parasitoide é indispensável conhecer os fatores bióticos e abióticos que envolvem estes agentes com seus respectivos hospedeiros (ALTUNTAS et al., 2010; SALVADOR et al., 2008). O incremento com agentes de controle biológico é prioritário, pois visa o controle de pragas, com menor custo ao produtor, além dos menores impactos ao agroecossistema (MONTEIRO et al., 2006). Assim, estudos em laboratórios são importantes, pois é o primeiro passo para entender a biologia do parasitoide e sua variação de características de acordo com o hospedeiro, condição de alimento e temperatura (PEREIRA et al., 2011; POMARI et al., 2012; MAWELA et al., 2013). A temperatura está entre os fatores abióticos de grande importância na vida dos insetos, influenciando na longevidade, sobrevivência, reprodução, crescimento e desenvolvimento, além de permitir entender as adaptações nas diferentes condições climáticas. Portanto, conhecer a longevidade do parasitoide é importante, pois permite prever o tempo de reprodução e desenvolvimento em função de futuras condições de campo (ROY et al., 2002; GOLIZADEH et al., 2009; SAEKI et al., 2012).

Além da condição de temperatura, a alimentação também tem influência na longevidade do parasitoide, assim como, interferência em outras características biológicas do inseto, como fecundidade (JERVIS et al., 1996). As diferentes condições de temperatura e alimentação proposta nessa pesquisa podem simular as diferentes condições climáticas de diferentes regiões que são alguns dos desafios enfrentados pelo agente após sua liberação em campo, já que *T. howardi* parasita e se desenvolve em pupas nas temperaturas variando entre 16 a 31 °C sem comprometer suas características biológicas (ALTOÉ et al., 2012; FAVERO, 2013).

Tendo em vista que o sucesso de programas biológicos clássicos está intimamente ligado ao sucesso do estabelecimento do inimigo natural onde se encontra o seu hospedeiro, então para que isso se torne possível, estudos que permitem a compreensão de fatores climáticos, são indispensáveis, já que estes influenciam na biologia do parasitoide (HOELMER et al., 2005). Desse modo, objetivou-se determinar a longevidade de *T. howardi* sob diferentes condições, como temperatura e alimentação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de condução dos experimentos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Ecologia e Controle Biológico de Insetos, no Laboratório de Patologia de Insetos e no Laboratório de Comportamento de Insetos do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco –UFRPE, Recife – PE.

2.2 *Tenebrio molitor* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Tenebrionidae)

A criação de *T. molitor* cujas pupas serviram como hospedeiro alternativo a *T. howardi*, foi estabelecida em bandejas plásticas (45x30x12 cm). As larvas foram alimentadas com uma mistura de farelo de trigo (95%) e levedura de cerveja (5%) e, como fonte de hidratação, receberam semanalmente fatias de cenoura ou segmentos de cana-de-açúcar até a formação das pupas. Estas se destinaram à manutenção da própria colônia e à multiplicação do parasitoide. Seguindo metodologia de criação proposta por (ZAMPERLINE et al.,1992).

2.3 *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae)

A criação de *T. howardi* foi estabelecida a partir de espécimes fornecidos pelo Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL), da Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD. Seguindo a metodologia desenvolvida por Vargas et al. (2011), adultos do parasitoide foram mantidos em tubos de vidro de fundo chato (10x2 cm) vedados com filme plástico de PVC, onde receberam como alimento gotículas de mel puro ofertado na parede interna dos tubos. Para manutenção da criação, pupas recém-formadas (≤ 48 h de idade) de *T. molitor* foram confinadas com sete fêmeas do parasitoide em tubos de vidro semelhantes aos descritos anteriormente. As pupas parasitadas foram mantidas à temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas até a emergência dos adultos.

2. 4 Desenvolvimento experimental

Tendo em vista que *T. howardi* parasita insetos de importância agrícola, como do gênero *Diatraea spp* (VARGAS et al., 2011), investigou-se no presente bioensaio a influência da disponibilidade de alimento e da temperatura de acondicionamento na sua longevidade.

Adultos de *T. howardi* (≤ 24 h de idade) foram confinados em tubos de vidro de fundo chato (10 x 2,5cm) e submetidos a três condições de alimentação: sem alimento, alimentados por apenas 24h antes de sua utilização e alimentados diariamente durante todo o estudo. Como alimento foi utilizado mel puro de abelha. Os tubos contendo os parasitoides acondicionados foram vedados com filme plástico de PVC e expostos sob temperaturas constantes em câmaras climáticas do tipo B.O.D reguladas a 18, 20, 25, 28 e 32 ± 2 °C e fotofase de 12h; ou sob temperatura ambiente distribuídos numa plataforma de madeira instalada na área experimental do Departamento de Fitossanidade da UFRPE a 1,8 m do solo e protegida da radiação solar direta. No último caso, os tubos contendo parasitoides foram mantidos no campo entre os meses de maio e julho/2018, quando se registrou temperatura média de 25,9 °C (variando de 18,8–36,4 °C), e entre outubro e novembro/2018, período com temperatura média de 28,9 °C (variando de 20,8–40,2 °C).

O experimento foi conduzido em esquema fatorial (3 x 7), considerando a condição de alimentação como fator principal (parasitoides não alimentados, alimentados por 24h ou alimentados diariamente) e as temperaturas de acondicionamento como fator secundário (18, 20, 25, 25,9, 28, 28,9 e 32 °C). Cada tratamento foi estabelecido com nove repetições, sendo cada repetição representada por um tubo contendo cinco parasitoides, totalizando 45 parasitoides por tratamento (40 fêmeas e cinco machos). A mortalidade dos parasitoides submetidos às diferentes condições foi avaliada diariamente, sendo a longevidade calculada mediante curvas de sobrevivência determinadas pelo método Kaplan-Meier em dias (média \pm EP) e comparadas pelo teste de Log-Rank, contrastando o efeito da condição de alimentação em cada temperatura e vice-versa.

2. 5 Análise estatística

A sobrevivência de machos e fêmeas de *T. howardi* submetidos a diferentes condições de alimentação e temperatura foi estimada empregando o método Kaplan-Meier e as curvas de sobrevivência comparadas pelo teste Log-Rank utilizando o Proc LIFETEST do SAS (SAS Institute 2001).

3. RESULTADOS

3.1 Longevidade de *Tetrastichus howardi* sob diferentes condições de alimentação e temperatura

A longevidade de *T. howardi* foi influenciada tanto pela condição de alimentação quanto pela temperatura de acondicionamento. De modo geral, a longevidade dos parasitoides foi inversamente proporcional ao aumento da temperatura, independente da condição de alimentação [longevidade de parasitoides: não alimentados, **Fig. 1A** ($\chi^2=272,2$; $GL = 6$; $P < 0,001$); alimentados por 24h, **Fig. 1B** ($\chi^2= 345,8$; $GL = 6$; $P < 0,001$); ou alimentados diariamente, **Fig. 1C** ($\chi^2= 653,8$; $GL = 6$; $P < 0,001$)].

Independente da temperatura de acondicionamento, parasitoides alimentados diariamente apresentaram maior longevidade que aqueles alimentados apenas por 24 horas no início da vida adulta, os quais, em alguns casos, apresentaram longevidade similar àqueles não alimentados [longevidade de parasitoides mantidos a: 18 °C, **Fig. 2A** ($\chi^2= 253,90$; $GL = 2$; $P < 0,001$); 20 °C, **Fig. 2B** ($\chi^2= 236,12$; $GL = 2$; $P < 0,001$); 25 °C, **Fig. 2C** ($\chi^2= 150,07$; $GL = 2$; $P < 0,001$); 28 °C, **Fig. 2D** ($\chi^2= 202,33$; $GL = 2$; $P < 0,001$); 32 °C, **Fig. 2E** ($\chi^2= 122,18$; $GL = 2$; $P < 0,001$); e sob temperatura ambiente, **Fig. 2F** ($\chi^2= 117,5$; $GL = 2$; $P < 0,001$); e **Fig. 2G** ($\chi^2= 150,35$; $GL = 2$; $P < 0,001$)].

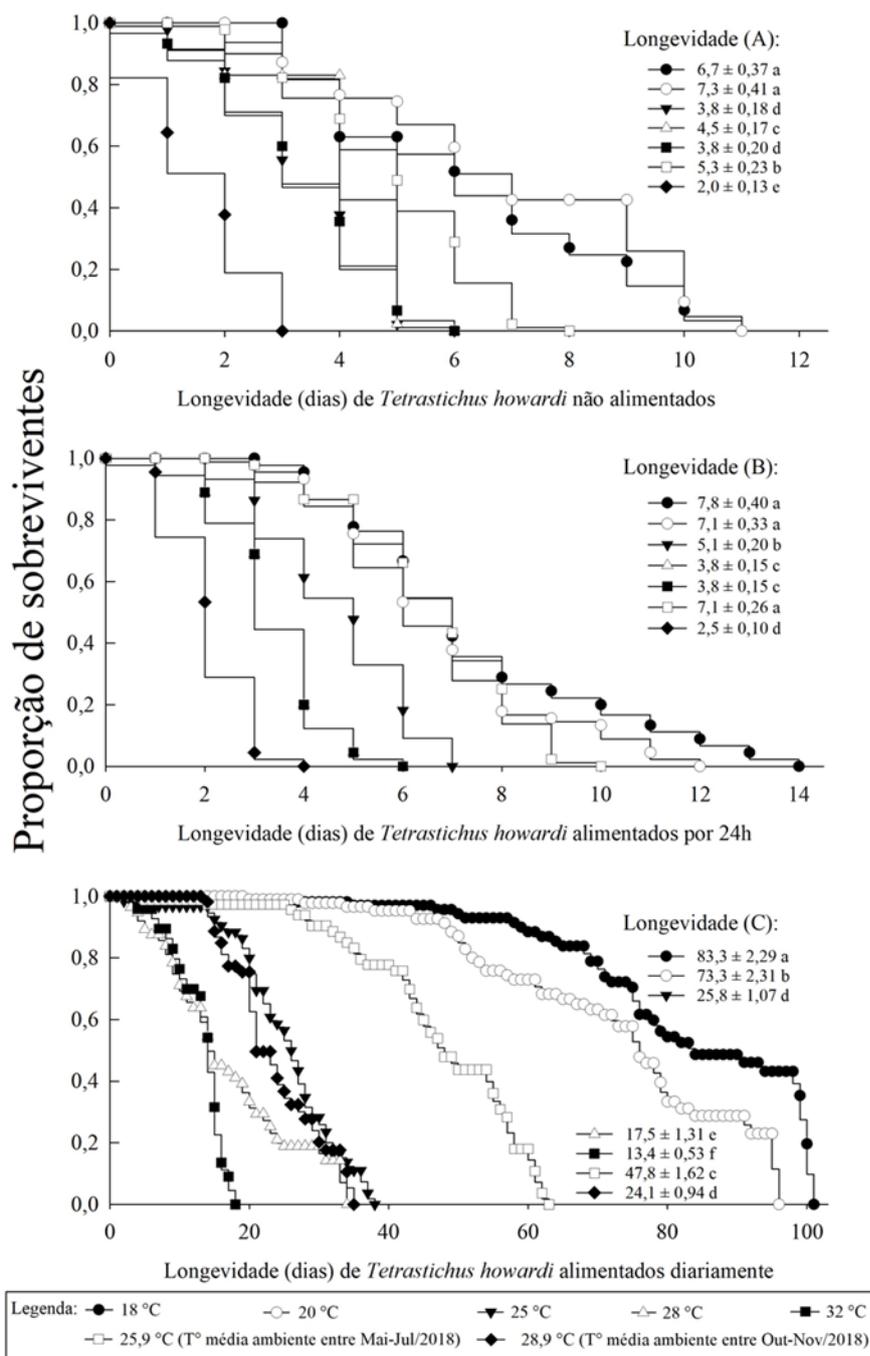


Figura 1. Longevidade de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) submetidos a diferentes condições de alimentação (A, sem alimento; B, alimentados por 24h; e C, alimentados diariamente) sob temperatura constante (18, 20, 25, 28 e 32 °C), ou ambiente (média entre maio e julho/2018 = 25,9 °C; e entre outubro e novembro/2018 = 28,9 °C). Nota: a longevidade média apresentada nas legendas foi calculada mediante curvas de sobrevivência determinadas pelo método Kaplan-Meier em dias (média \pm EP) e comparadas pelo teste de Log-Rank, contrastando o efeito das temperaturas em cada condição de alimentação separadamente.

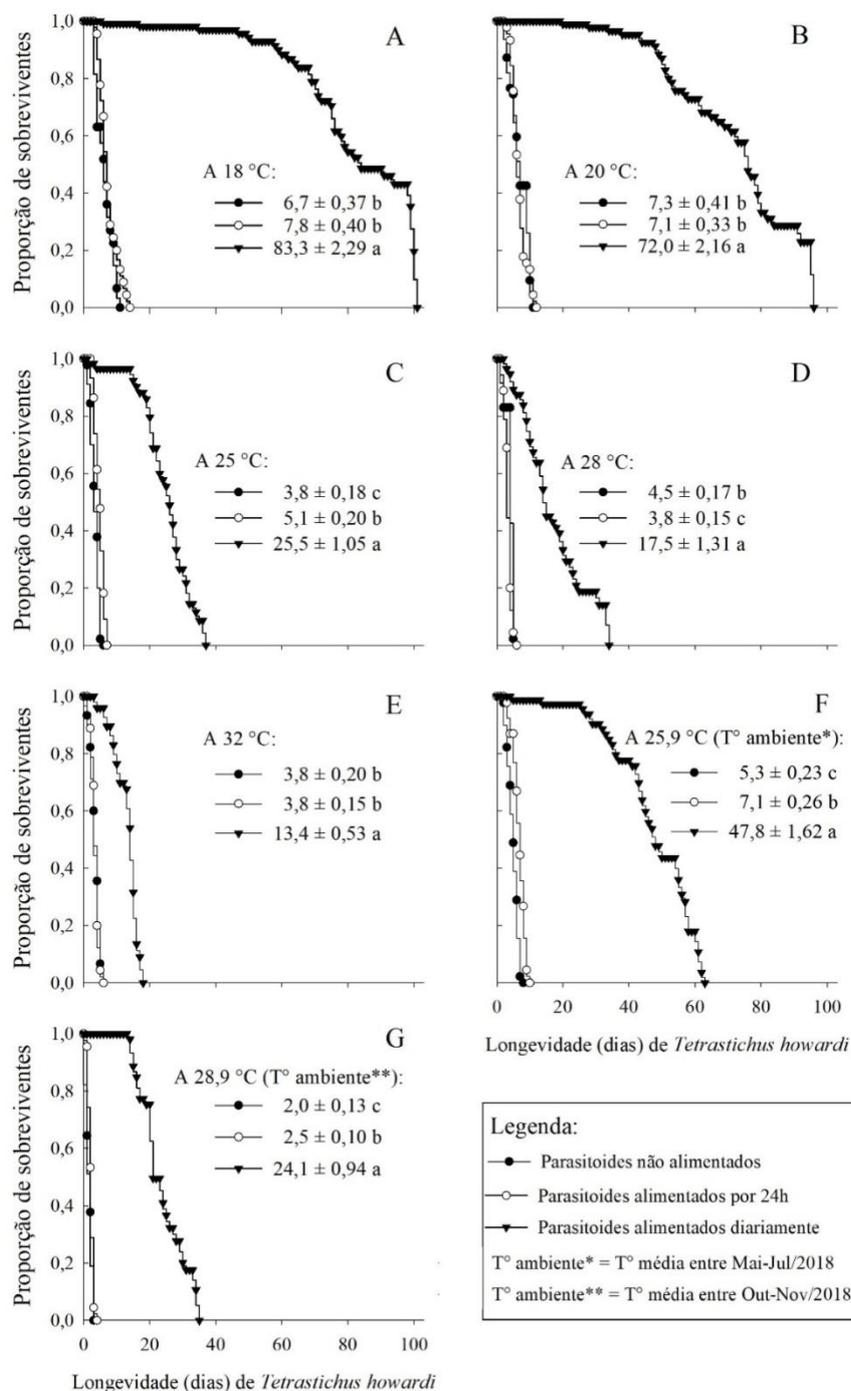


Figura 2. Longevidade de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) submetidos a diferentes condições de alimentação (A, sem alimentado; B, alimentados por 24h, e C, alimentados diariamente) sob temperatura constante (18, 20, 25, 28 e 32 °C), ou ambiente (média entre maio e julho/2018 = 25,9 °C; e entre outubro e novembro/2018 = 28,9 °C). Nota: a longevidade apresentada nas legendas foi calculada mediante curvas de sobrevivência determinadas pelo método Kaplan-Meier em dias (média ± EP) e comparadas pelo teste de Log-Rank, contrastando o efeito da condição de alimentação em cada temperatura separadamente.

4. DISCUSSÃO

Com base nos resultados podemos estimar o período de vida do parasitoide no ambiente, em função da temperatura e alimento, onde a questão da temperatura pode assemelhar-se com diferentes regiões brasileiras. *T. howardi* sofreu variação na longevidade em função tanto da condição de alimentação (não alimentado, alimentado por 24 horas e alimentado diariamente), quanto na variação de temperatura de acondicionamento (18 a 32°C). O aumento da longevidade foi inversamente proporcional à variação de temperatura. Em condições de temperaturas de 18 e 20 °C é observado maior longevidade do parasitoide se comparado com as variações ocorridas entre 20 e 32° C. Isso se deve possivelmente por mudanças metabólicas ou regulatórias na biologia do inseto, diminuindo seu metabolismo, que pode acontecer em climas desfavoráveis ou instáveis, prolongando não só a sobrevivência como também o amadurecimento dos ovos (GERLING, 1972; BLEICHER et al., 1990; TAUFER et al., 2000).

Porém, a longevidade parece ter um limite térmico, onde em condições extremas de temperatura pode ocorrer estresse corporal (aumento do gasto energético ou perda de água) diminuindo assim, a expectativa de vida. Redução da expectativa de vida foi observada em *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Tephritidae) quando expostas a temperaturas extremas de 9 e 25 °C, já a expectativa de vida foi maior nas temperaturas intermediárias de 13 e 20 °C, (TAUFER et al., 2000). Além de outras características biológicas que podem ser afetadas, como fertilidade e disfunção fisiológica (COLINET et al., 2011; LESSARD et al., 2013). Com base no resultado desse experimento, as temperaturas consideradas menores 18 e 20 °C, possivelmente não foram suficientes para causar nenhum estresse corporal nos parasitoides expostos, sendo assim, não houve duplicação dos gastos energéticos para manter a homeostasia do corpo, tão pouco perda acelerada de água. Isso pode explicar a longevidade, independente da alimentação, FIGURA 01.

A tendência de redução da longevidade com o aumento da temperatura, possivelmente por desidratação do inseto e também a destruição ou degeneração de enzimas (MOHAN et al., 1992; TAUFER et al., 2000). Além do mais, quando se tem um acréscimo na temperatura, onde possivelmente o parasitoide não está adaptado a ficar exposto por muito tempo, sua sobrevivência entra em risco, devido às mudanças metabólicas do organismo, percebe-se redução drástica do metabolismo, onde as

funções vitais são comprometidas (GERLING, 1972; BLEICHER et al., 1990; BUENO et al., 2008; PANDEY et al., 2008).

No geral, o fato dos parasitoides não alimentados, independente da condição de temperatura sobreviverem menos que os alimentados, possivelmente é porque acumularam energia somente em sua fase de imaturos, energia essa do seu hospedeiro, restringindo então algumas características biológicas, dentre elas sua longevidade, já que precisam de energia retirada de outras fontes para sobreviverem e parasitar com sucesso, quando atingirem a fase adulta (WINKLER et al., 2009). Apesar das longevidades serem bem próximas em alguns pontos da condição de alimentação por 24h em relação a sem alimento, demonstrando não haver muita diferença nessa característica biológica do parasitoide, porém outras características biológicas, quando alimentado sofrem alterações, como a capacidade de vôo, capacidade de localizar seu hospedeiro, além da fecundidade e taxa de parasitismo que será maior (LEWIS et al. 1998; FADAMIRO et al., 2001; WINKLER et al., 2009). Assim, a importância da alimentação dos adultos do parasitoide antes de serem liberados em campo para controlar determinada praga, pois isso influenciará diretamente em sua longevidade, bem como em seu sucesso de parasitismo e desenvolvimento no hospedeiro.

Os parasitoides alimentados diariamente apresentaram longevidade superior aos demais intervalos, independente da condição de temperatura. O meu puro de abelha é uma solução altamente concentrada, constituída principalmente de açúcar, água, enzima, proteína, vitamina, aminoácido e mineral, esse complexo de substâncias possivelmente supriu toda sua necessidade biológica, prolongando assim sua longevidade (ALVAREZ-SUAREZ et al., 2009). Conhecer a sobrevivência do parasitoide em determinadas temperaturas é importante, pois nos mostra como ele responderá as diferentes condições que possivelmente encontrará no meio ambiente quando for liberado como agente de controle biológico (YU et al., 1994). Essas informações podem ser usadas em possíveis lançamentos de programas de controle biológico com essa espécie. Além de facilitar a compreensão do número de gerações do parasitoide em campo, bem como a melhor época para sua liberação (HAGHANI et al., 2007; KALAITZAKI et al., 2007).

Mesmo com variações intensas nas temperaturas, os adultos sobreviveram uma média de $5,3 \pm 0,23$ e $2,0 \pm 0,13$ nas respectivas temperaturas, sem alimento, ao passo que alimentados por 24h a média da longevidade foi $7,1 \pm 0,26$ e $2,5 \pm 0,10$ respectivamente, isso demonstra a importância da alimentação na sobrevivência do

parasitoide, além da expectativa de vida aumentar, altera também sua capacidade de vôo, de localizar seu hospedeiro, fecundidade e taxa de parasitismo (LEWIS et al., 1998; FADAMIRO et al., 2001; WINKLER et al., 2009). Esses resultados são informações que visam enriquecer esse aspecto biológico do *T. howardi*, pois a longevidade é um dos caracteres mais importante do parasitoide, haja vista que o sucesso de parasitismo e desenvolvimento depende também da permanência do mesmo no ambiente num intervalo de tempo suficiente para localizar e parasitar o respectivo hospedeiro.

5. CONCLUSÃO

Tetrastichus howardi sobrevive às diferentes condições de temperatura e alimento testadas.

Tetrastichus howardi pode ser criado e armazenado em temperaturas de 18 ou 20°C, desde que alimentados diariamente para futuras liberações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVAREZ-SUAREZ, J.; TULIPANI, S.; ROMANDINI, S.; VIDAL, A.Y.; BATTINO, M. Methodological aspects about determination of phenolic compounds and in vitro evaluation of antioxidant capacity in the honey: a review. **Current Analytical Chemistry**, v. 5, p. 293–302, 2009.

ALTUNTAS, H.; KILIC, A.Y.; SIVAS ZEYTIÑOGLU, H. The effects of parasitism by the ectoparasitoid *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) on host hemolymph proteins in the Mediterranean flour moth *Ephesia kueniella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Turkish Journal of Zoology**, v. 34, p. 409-416, 2010.

ALTOÉ, T.S.; PRATISSOLI, D.; CARVALHO, J.R.; SANTOS JUNIOR, H.J.G.; PAES, J.P.P.; BUENO, R.C.O.F.; BUENO, A.F. *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitism of *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs under different temperatures. **Annals of the Entomological Society America**, v. 105, p. 82–89, 2012.

BLEICHER, E.; PARRA, J.R.P. Espécies de *Trichogramma* parasitoides de *Alabama argillacea*. Determinação das exigências térmicas de três populações. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 25, p. 215–219, 1990.

BUENO, R.C.O.F.; CARNEIRO, T.R.; PRATISSOLI, D.; BUENO, A.F.; FERNANDES, O.A. Biology and thermal requirements of *Telenomus remus* reared on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* eggs. **Ciência Rural**, v. 38, p. 1-6, 2008.

COLINET, H.; BOIVIN, G. Insect parasitoids cold storage: A comprehensive review of factors of variability and consequences. **Biological Control**, v. 58, p. 83–95, 2011.

COSTA, D. P. **Interações biológicas entre *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) e *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) no parasitismo de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar**. 2013. 82p. Tese (Doutorado em agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2013.

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

DINARDO-MIRANDA, L.L.; ANJOS, I.A.; COSTA, V.P.; FRACASSO, J.V. Resistance of sugarcane cultivars to *Diatraea saccharalis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, p. 1-7, 2012.

FADAMIRO, H.Y.; HEIMPEL, G. Effects of partial sugar deprivation on lifespan and carbohydrate mobilization in the parasitoid *Macrocentrus grandii* (Hymenoptera: Braconidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 94 p. 909–916, 2001.

FAVERO, K. **Desempenho biológico de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) multiplicado em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) sob diferentes temperaturas**. 93p. Tese (Doutorado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) - Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2013.

GERLING, D. The developmental biology of *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 61, p. 385–388, 1972.

GODFRAY, H.C.J. **Parasitoids, behavioral and evolutionary ecology**. Princeton: Princeton University Press, p. 473, 1994.

GOLIZADEH, A., KAMALI, K., FATHIPOUR, Y., ABBASIPOUR, H. Effect of temperature on life table parameters of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) on two brassicaceous host plants. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 12, p. 207–212, 2009.

HAGHANI, M.; FATHIPOUR, Y.; TALEBI, A.A.; BANIAMERI, V. Temperature dependent development of *Diglyphus isaea* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Liriomyza*

sativae (Diptera: Agromyzidae) on cucumber. **Journal of Pest Science**, v. 80, p. 71-77, 2007.

HARVEY, J.A.; POELMAN, E.H.; TANAKA, T. Intrinsic Inter- and Intraspecific Competition in Parasitoid Wasps. **Annual Review Entomology**, v. 58, p. 333-351, 2013.

HOELMER, K. A.; KIRK, A. A. Selecting arthropod biological control agents against arthropod pests: Can the science be improved to decrease the risk of releasing ineffective agents? **Biological control**, v. 34, p. 255-264, 2005.

JERVIS, M.A.; KIDD, N.A.C. **Phytophagy. Insect Natural Enemies Practical Approaches to Their Study and Evaluation**, p. 375–394, 1996.

KALAITZAKI, A.P.; LYKOURESSIS, D.P.; PERDIKIS, D.C.H.; ALEXANDRAKIS, V.Z. Effect of temperature on development and survival of the parasitoid *Pnigalio pectinicornis* (Hymenoptera: Eulophidae) reared on *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). **Environmental Entomology**, v. 36, p. 497-505, 2007.

LASALLE, J.; POLASZEK, A. Afrotropical species of the *Tetrastichus howardi* species group (Hymenoptera: Eulophidae). **African Entomology**, v. 15, p. 45–56, 2007.

LEWIS, W.J.; STAPEL, J.O.; CORTESERO, A.M.; TAKASU, K. Understanding how parasitoids balance food and host needs: importance to biological control. **Biological Control**, v.11, p. 175–183, 1998.

LESSARD, E.; BOIVIN, G. Effect of low temperature on emergence, fecundity, longevity and host-feeding by *Trichogramma brassicae*. **Biological control**, v. 58, p. 319–329, 2013.

MAWELA, K.V.; KFIR, R.; KRÜGER, K. Effect of temperature and host species on parasitism, development time and sex ratio of the egg parasitoid *Trichogrammatoidea lutea* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Biological Control**, v. 64, p. 211–216, 2013.

MOHAN, B.R.; VERMA, A.N.; SINGH, S.P. Biology of *Apanteles flavipes* a potential parasitoid of *Chilo partellus* infesting forage sorghum. **Journal of Insect Science**, v. 5, p. 144–146, 1992.

MONTEIRO, L.B.; SOUZA, A.; PASTORI, P.L. Comparação econômica entre o controle biológico e químico para o manejo de ácaro-vermelho em macieira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, p. 514-517, 2006.

PANDEY, A.K.; TRIPATHI, C.O.M. Effect of temperature on the development, fecundity, progeny sex ratio and life-table of *Campoletis chlorideae*, an endolarval parasitoid of the pod borer, *Helicoverpa armigera*. **Biological Control**, v.53, p. 461-471, 2008.

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

PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; VARGAS, E. L.; CALADO, V. R. F.; OLIVEIRA, H. N.; ZANUNCIO, J. C. Parasitism and emergence of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on the caterpillars, pupae and adults of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **The Florida Entomologist**, v. 95, p. 384-387, 2015.

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 Brazil. **Florida Entomologist**, v. 96, p. 154-159, 2013.

ROY, M.B.J.; CLOUTIER, C. Relationship between temperature and developmental rate of *Stethorus punctillum* (Coleoptera: Coccinellidae) and its prey *Tetranychus mcdanieli* (Acarina: Tetranychidae). **Environmental Entomology**, v. 31, p. 177–187, 2002.

SAEKI, Y.; CROWLEY, P. Temperature effects during development on a polyembryonic parasitoid and its host. **Journal of Thermal Biology**, v.37, p. 602–607, 2012.

SALVADOR, G.; CÔNSOLI, F.L. Changes in the hemolymph and fat body metabolites of *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1974) (Lepidoptera: Crambidae) parasitized by *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae). **Biological Control**, v. 45, p. 103-110, 2008.

SEGATO, S.V.; PINTO, A.S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J.C.M. **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: CP2, p. 415, 2006.

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

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

TAUFER, M.; NASCIMENTO, J.C.D.; CRUZ, I.B.M.D.; OLIVEIRA, A.K.D. Efeito da temperatura na maturação ovariana e longevidade de *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae). Jaboticabal, SP. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, p. 639-648, 2000.

VAN DRIESCHE, R.G.V.; BELLOWS, T.S. **Biological Control**, p. 539 , 1996.

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

VARGAS, E.L. **Parasitismo e desenvolvimento de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em lagarta e pupa de *Diatraea saccharalis***

(Lepidoptera: Crambidae). 88p. Tese (Doutorado em agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2013.

WINKLER, K.; WÄCKERS, F.L.; KAUFMAN, L.V.; LARRAZ, V.; VAN, L.J.C. Nectar exploitation by herbivores and their parasitoids is a function of flower species and relative humidity. **Biological Control**, v. 50, p. 299–306, 2009.

YU, D.S.; BYERS, J.R. Inundative release of *Trichogramma brassicae* Bezdenko (Hymenoptera: Trichogrammatidae) for control of European corn borer in sweet corn. **The Canadian Entomologist**, v. 126 p. 291–301, 1994.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste trabalho são enriquecedores, visto que é o primeiro registro de *T. howardi* parasitando e se desenvolvendo em lagartas e pupas de *D. flavipennella* em condições de laboratório. Tal fato incrementa os conhecimentos até então, sobre a preferência deste parasitoide quanto à fase do hospedeiro. Isto abre novas perspectivas no sentido de utilizar este agente em Programas de Controle Biológico já estabelecido de forma complementativa, pois sua capacidade de parasitismo e desenvolvimento em pupa de *D. saccharalis* ou *D. flavipennella*, são superiores à 87% das pupas testadas em laboratório. Seu uso aliado a outros agentes como *C. flavipes* é uma proposta para pesquisas futuras, pois ambos os parasitoides *C. flavipes* e *T. howardi* têm como alvo preferencial de parasitismo, fases diferente de desenvolvimento do mesmo lepidóptero- praga, o que acaba contribuindo fortemente para a diminuição da densidade populacional dessas mariposas se eles atuarem em conjunto.

Os experimentos realizados envolvendo *T. howardi* com *D. flavipennella* nos fornece subsídios no sentido de responder perguntas relacionadas se este parasitoide apresentaria potencial de parasitar e se desenvolver em lagartas ou pupas desse hospedeiro. São resultados básicos para à partir de então, desenvolver novos estudos acerca de sua aplicação em campo, sua dispersão, número de liberações, quantidade por hectare e assim por diante.

Com base nos resultados, podemos afirmar que *T. howardi* é um parasitoide preferencialmente da fase de pupa de *D. flavipennella* e *D. saccharalis* e também apresenta plasticidade de sobrevivência em diferentes condições de alimento e temperatura, isso é algo enriquecedor para os estudos básicos sobre inimigos naturais, uma vez que o conjunto de tais informações nos permite conhecer tanto sobre a biologia do parasitoide, como sua expectativa de vida em diferentes condições. Dessa forma, quanto maior o conhecimento sobre a relação do parasitoide com seus hospedeiros e condições ambientais, diminuirá as chances de erros numa eventual liberação para controle biológico utilizando esse agente.

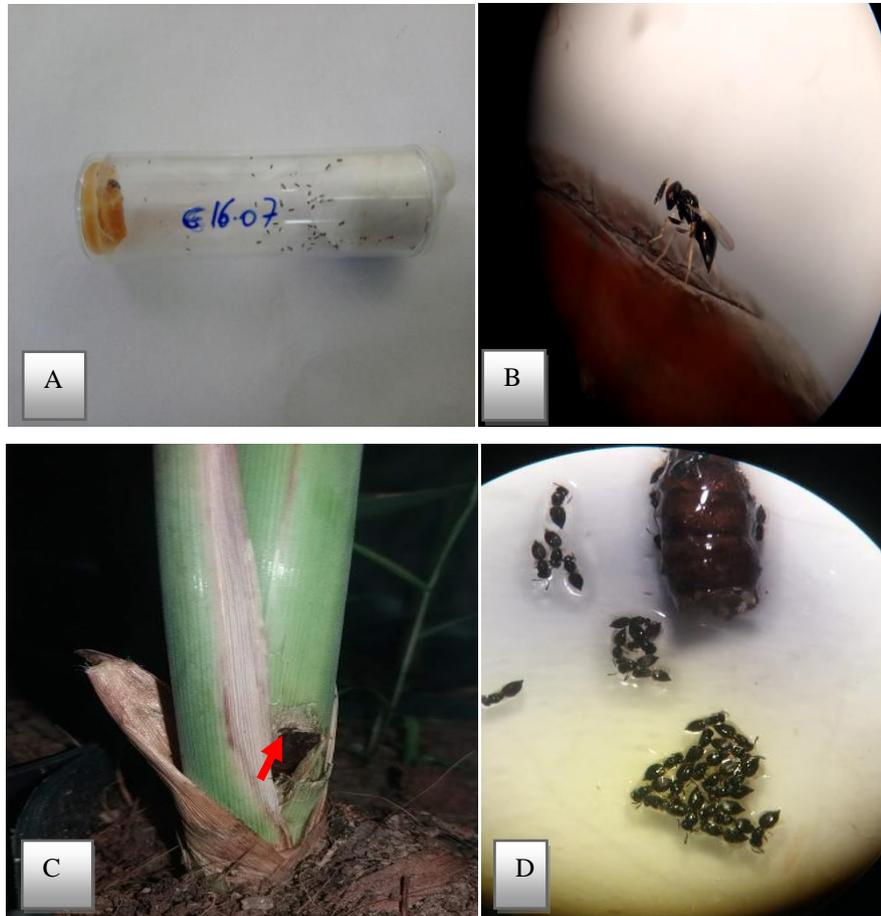
ANEXOS

ANEXO 1. Ensaio de Laboratório desenvolvido com *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae) e *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae), conduzidos no Laboratório de Ecologia e Controle Biológico da Universidade Federal Rural de Pernambuco, em Recife, Pernambuco, Brasil.



A – Aspecto característico de Lagarta parasitada por *Tetrastichus howardi* após 96 horas. **B e C** - Pupas de *Tetrastichus howardi* sobre lagartas de quinto instar de *Diatraea flavipennella*. **D**- Lagarta de *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae) sendo parasitada por uma fêmea de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae).

ANEXO 2. Ensaio de Laboratório desenvolvido com *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae) e *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae), conduzidos no Laboratório de Ecologia e Controle Biológico da Universidade Federal Rural de Pernambuco, em Recife, Pernambuco, Brasil.



A - Emergência de *Tetrastichus howardi* em lagarta de quinto instar de *Diatraea flavipennella*. **B** - *Tetrastichus howardi* parasitando pupa de *Diatraea flavipennella*. **C** - *Tetrastichus howardi* parasitando pupa de *Diatraea flavipennella* localizada em cana-de-acúcar. **D** - Adultos de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) emergidos de pupa de *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae).