

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

**DESEMPENHO BIOLÓGICO DE *Tetrastichus howardi*
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) MULTIPLICADO EM
PUPAS DE *Diatraea saccharalis* (LEPIDOPTERA:
CRAMBIDAE) SOB DIFERENTES TEMPERATURAS**

Kellen Favero

Dourados-MS

(Agosto/2013)

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

Kellen Favero

**DESEMPENHO BIOLÓGICO DE *Tetrastichus howardi*
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) MULTIPLICADO EM
PUPAS DE *Diatraea saccharalis* (LEPIDOPTERA:
CRAMBIDAE) SOB DIFERENTES TEMPERATURAS**

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

Orientador: Dr. Fabricio Fagundes Pereira

Coorientador: Dr. Harley Nonato de Oliveira

Dourados-MS
(Agosto/2013)

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central - UFGD

Favero, K.

Desempenho biológico de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) multiplicado em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) sob diferentes temperaturas/ Kellen Favero. – Dourados, MS : UFGD, 2013.

96f.

Orientador: Fabricio Fagundes Pereira

Tese (Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) – Universidade Federal da Grande Dourados.

1. Pragas - Controle biológico. 2. Parasitoide pupal. 3. Parasitismo. 4. Pragas de Cana-de-açúcar. I. Título.

**"DESEMPENHO BIOLÓGICO DE *Tetrastichus howardi*
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) MULTIPLICADO EM
PUPAS DE *Diatraea saccharalis* (LEPIDOPTERA:
CRAMBIDAE) SOB DIFERENTES TEMPERATURAS"**

Por

Kellen Favero

Tese apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD,
como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de
DOUTOR EM ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE
Área de concentração: Entomologia

Prof. Dr. Fabricio Fagundes Pereira
Orientador - UFGD

Prof. Dr. Patrik Luiz Pastori
Membro Titular - UFC

Prof. Dr. Robson Thomaz Thuler
Membro Titular - IFTM

Prof. Dr. Gilberto Santos Andrade
Membro Titular - UFR

Dr^a. Daniele Fabiana Glaeser
Membro Titular Embrapa/CPA

BIOGRAFIA

KELLEN FAVERO, filha de Orlando Favero e Noêmia de Fátima Favero, nasceu na cidade de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil, no dia 05 de novembro de 1983.

Cursou toda sua vida escolar (1987 - 2001) no Colégio Notre Dame de Lourdes em Cuiabá, Mato Grosso.

Em março de 2002 ingressou no curso de Ciências Biológicas no Centro Universitário de Várzea Grande - UNIVAG, em março de 2004 transferiu o curso para a Universidade Federal do Mato Grosso - UFMT, onde formou-se em junho de 2006.

Entre julho de 2003 e maio de 2004, durante a graduação, realizou estágio junto a Secretaria Estadual do Meio Ambiente - SEMA, Cuiabá, Mato Grosso.

Entre julho de 2004 a julho de 2006 desenvolveu atividades de estágio no Laboratório de Ecologia Animal da Universidade Federal do Mato Grosso - UFMT.

Em março de 2007, iniciou o Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, na Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD, defendendo a dissertação em março de 2009.

Em março de 2010 iniciou o Doutorado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, na Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD, desenvolvendo experimentos na Embrapa Agropecuária Oeste (Dourados - Mato Grosso do Sul), vindo a defender tese em agosto de 2013.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela saúde, por me guiar e me proteger a cada passo dessa jornada.

Ao Programa de Pós Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), pela oportunidade de realizar o curso de Doutorado.

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) - Centro de Pesquisa Agropecuária do Oeste (CPAO), por ter permitido a realização do trabalho de conclusão do curso de doutorado através da infraestrutura cedida para a realização deste trabalho.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro concedido através de bolsa de estudo.

Ao Prof. Fabricio Fagundes Pereira, pela orientação, pela paciência, dedicação e entusiasmo. Agradeço por todos os ensinamentos transmitidos nesses quase seis anos de convivência.

Ao Dr. Harley Nonato de Oliveira, pela coorientação, pela seriedade e competência. Agradeço os valiosos ensinamentos que servirão para minha vida profissional e pessoal, e também pelas oportunidades oferecidas.

Ao Prof. Dr. Jorge Braz Torres, pelas valiosas sugestões na melhoria desse trabalho.

Aos Professores do Curso de Pós-Graduação em Entomologia pelos ensinamentos transmitidos.

A todos meus professores desde os primeiros anos escolares até os mais recentes, pelos ensinamentos transmitidos, cada um teve papel importante na minha caminhada.

A Patrícia Paula Bellon, pelo eficiente auxílio na condução dos experimentos, e principalmente pela animadora, divertida e inestimável companhia.

A Elidiane Feltrin, pela grande ajuda na contagem e separação dos parasitoides, além do auxílio com as criações de insetos.

A Alexa Gabriela Santana, pelos momentos alegres e incentivos nos momentos difíceis.

Aos demais colegas do laboratório de Entomologia da Embrapa Agropecuária Oeste, Danilo Renato Santana, Hallana de Souza Santos, Denisar Carvalho, Daniele Fabiana Glaeser, pelo agradável convívio, pelo auxílio na condução das criações dos insetos, pela troca de conhecimentos e acima de tudo pela amizade.

À aquelas que foram mais do que companheiras de moradia, Daniele Perassa Costa e Carla Cristina Dutra e pelo convívio, amizade e bons momentos compartilhados.

A minha amada família pela dedicação, amor, confiança, incentivo constante, e apoio incondicional.

A minha família douradense Celina Irigaray Nishioka, Humberto Nishioka, e aos pequenos Ana Júlia, João Humberto e Maria Eduarda, pela grande amizade e agradável convivência.

Ao meu amado, Anderson Rodrigo Diedrich, pelo amor dedicado a mim, pela paciência e compreensão com a minha ausência.

Ao meu fiel e inseparável companheiro de todas as horas, Liel por tornar os meus dias mais alegres.

Aos amigos distantes não citados, que se fizeram presentes, agradeço a amizade verdadeira de sempre.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

Aos meus queridos pais Noêmia de Fátima Favero e Orlando Favero,
por toda dedicação, incentivo constante e confiança que sempre
depositaram em mim, fornecendo-me forças para alcançar meus
objetivos.

Dedico

SUMÁRIO

RESUMO GERAL.....	xi
ABSTRACT.....	xii
INTRODUÇÃO GERAL	1
OBJETIVO	4
REFERÊNCIAS.....	5

CAPÍTULO 1. Exigências térmicas e estimativa do número de gerações de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) para regiões produtoras de cana-de-açúcar no Brasil

Resumo	10
Abstract	10
Introdução	11
Material e Métodos	12
Resultados	15
Discussão	16
Conclusões	20
Referências.....	21

CAPÍTULO 2. Aspectos biológicos e tabela de vida de fertilidade de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) sob diferentes temperaturas

Resumo	32
Abstract	33
Introdução	33
Material e métodos.....	35
Resultados	37
Discussão	38
Conclusões	42
Referências.....	43

CAPÍTULO 3. Qualidade biológica de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) após o armazenamento a frio

Resumo	53
Abstract	53
Introdução	54

Material e Métodos	55
Resultados	58
Discussão	61
Conclusões	66
Referências.....	67
CONCLUSÕES FINAIS	83
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	84

RESUMO GERAL

A temperatura é um dos principais fatores abióticos responsáveis por afetar a vida dos insetos. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da temperatura sobre o desempenho biológico de *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) criado em pupas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae), visando otimizar sua multiplicação em laboratório. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Entomologia da Embrapa Agropecuária Oeste (CPAO), Dourados, Mato Grosso do Sul. Foram realizados experimentos visando avaliar a biologia, as exigências térmicas e o desempenho reprodutivo de *T. howardi* por meio da construção de tabela de vida em pupas de *D. saccharalis* em seis temperaturas (16, 19, 22, 25, 28, 31 e 33°C); estimar o número de gerações anuais de *T. howardi* para as principais regiões produtoras de cana-de-açúcar no Brasil; e avaliar o efeito do armazenamento de pupas de *D. saccharalis* e de imaturos de *T. howardi* a 10°C em diferentes períodos de exposição (cinco, dez, 15, 20 e 25 dias) sobre sua qualidade biológica. O parasitoide *T. howardi* se desenvolveu em pupas de *D. saccharalis* nas temperaturas entre 16 e 31°C, com 100% de emergência nessas temperaturas. *T. howardi* não completou seu desenvolvimento a 33°C. A temperatura base (T_b) e a constante térmica (K) de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis* foram de 9,66°C e 292,89 graus-dia (GD), respectivamente. O número estimado de gerações anuais de *T. howardi* para os municípios de Dourados-MS, Jaboticabal-SP, Uberaba-MG, Itumbiara-GO, Campo Mourão-PR foi de 15,86; 16,04; 16,20; 17,97; 13,29 respectivamente. Os parâmetros estimados por meio da tabela de vida de fertilidade resultaram em maior taxa líquida de reprodução (R_0) a 25°C. A taxa intrínseca de crescimento populacional (r_m) foi maior nas temperaturas de 25, 28 e 31°C. Temperaturas entre 19 e 28°C permitiram maior fecundidade e longevidade de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis*. Pupas de *D. saccharalis* podem ser armazenadas a 10°C por até 25 dias e posteriormente utilizadas para a multiplicação de *T. howardi* sem efeitos danosos para a população desse parasitoide. A qualidade das gerações parentais e F1 de *T. howardi* decresceu com o aumento do período de exposição ao frio quando os parasitoides estavam na fase imatura dentro das pupas de *D. saccharalis*. O parasitoide *T. howardi* pode ser armazenado a 10°C por até dez dias sem comprometer os aspectos biológicos da geração parental e F1.

Palavras-chave: Exigências térmicas, número de gerações, tabela de vida, armazenamento.

ABSTRACT

One of the main abiotic factors affecting the lives of insects is temperature. The aim of this study was to evaluate the effect of temperature on the biological performance of *Tetrastichus howardi* (Olliff), reared under laboratory conditions, on the *Diatraea saccharalis* (Fabricius) pupae to optimize their multiplication. Conducted in the Laboratory of Entomology of Embrapa (CPAO), Dourados, Mato Grosso do Sul, these experiments aimed at evaluating the biology, thermal requirements and reproductive performance of *T. howardi* by preparing a table recording the pupal life of the *D. saccharalis* at six different temperatures, viz., at 16, 19, 22, 25, 28, 31 and 33°C. It also strove to estimate the number of generations of *T. howardi* in the main cane sugar production zones of the plant, as well as to evaluate the effect of storage on the *D. saccharalis* pupae and on the immature *T. howardi* at 10°C, for different lengths of exposure (at zero, five, ten, 15, 20 and 25 days) on their biological quality. The parasitoid *T. howardi* developed within the pupae of *D. saccharalis* between 16 and 31°C temperature, showing 100% emergence in this temperature range. However, at 33°C the *T. howardi* were unable to complete their development. The base temperature (T_b) and thermal constant (K) of *T. howardi* in the pupae of *D. saccharalis* were 9.66°C and 292.89 degree-days (GD), respectively. The estimated number of the annual generations of *T. howardi* in the Dourados-MS, Jaboticabal-SP, Uberaba-MG, Itumbiara-GO and Campo Mourao-PR municipalities was 15.86, 16.04, 16.20, 17.97 and 13.29, respectively, while *D. saccharalis* did not exceed 6.23 generations annually. The parameters in the estimation of the life table fertility produced a higher net reproductive rate (R_0) at 25°C, while the intrinsic rate of increase (r_m) remained identical between the upper and temperatures of 25, 28 and 31°C. On the other hand, temperatures between 19 and 28°C accorded improved performance of *T. howardi* in the pupae of *D. saccharalis* due to the higher fecundity and longevity. The *D. saccharalis* pupae can be stored at 10°C for 25 days and then used to enable multiplication of the *T. howardi* without any harmful effects to the population of this parasitoid. The parental and F1 *T. howardi* population decreased in quality as the exposure period to the cold increased, when the parasitoids were at the immature stage within the *D. saccharalis* pupae. Thus *T. howardi* can undergo storage at 10°C up to ten days without any compromise of the biological aspects of the parental and F1 generations.

INTRODUÇÃO GERAL

Os parasitoides são importantes para o equilíbrio de agroecossistemas pela sua diversidade e altos níveis de parasitismo sobre seus hospedeiros (van Driesche e Bellows 1996). A maioria desses inimigos naturais pertence às ordens Hymenoptera e Diptera (Godfray 1994). Espécies de Braconidae, Ichneumonidae, Eulophidae, Pteromalidae, Encyrtidae e Aphelinidae parasitam ovos, larvas, pupas ou adultos, principalmente de Coleoptera, Lepidoptera, Diptera e Hemiptera. Podem ser endoparasitoides ou ectoparasitoides, idiobiontes ou cenobiontes e representam as famílias com maior número de espécies empregadas no controle biológico (van Driesche e Bellows 1996).

Existem muitos casos de sucesso em vários países do mundo utilizando-se parasitoides em programas de controle biológico, sendo que, no Brasil, tem-se conseguido resultados satisfatórios com *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) por meio de liberações inundativas do parasitoide, em plantios comerciais de cana-de-açúcar, para o controle da broca-da-cana *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae). Sendo este, um dos maiores casos de sucesso de controle biológico no mundo (Pinto et al. 2006). Esse sucesso ocorre devido a capacidade de *C. flavipes* de encontrar hospedeiros dentro do colmo das plantas de cana-de-açúcar, além da habilidade de se adaptar a diferentes regiões canavieiras (Vacari et al. 2012).

O endoparasitoide gregário, *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae), tem sido registrado associado a um grande número de pragas de importantes culturas (Baitha et al. 2004, La Salle e Polaszek 2007, Prasad et al. 2007, Silva-Torres et al. 2010). No Brasil, foi encontrado parasitando *D. saccharalis* em cana-de-açúcar (Vargas et al. 2011) e milho (Cruz et al. 2011). Atributos de *T. howardi* que indicam seu potencial de utilização no controle biológico dessa importante praga, são sua capacidade de parasitar e se desenvolver nos estágios de lagarta e pupa de *D. saccharalis* (Vargas et al. 2011), e de localizar o hospedeiro nas galerias produzidas pelas pragas nas plantas hospedeiras (Kfir et al. 1993). Desta maneira, *T. howardi* pode ser utilizado como mais uma opção para o controle biológico de *D. saccharalis* e poderá complementar o controle realizado com o parasitoide larval *C. flavipes*.

Para o uso desses agentes de controle biológico é fundamental o conhecimento de suas características biológicas e suas interações com o hospedeiro (Altoé et al. 2012, Pastori et al. 2012). Estudos de laboratórios são cruciais para avaliar adequadamente a biologia do parasitoide, sua capacidade de parasitismo, seu ciclo biológico, entre outras

características que podem variar de acordo com o hospedeiro e temperatura (Pereira et al. 2011, Pomari et al. 2012, Mawela et al. 2013).

A temperatura é um dos fatores abióticos mais importantes para a sobrevivência de artrópodes (Saeki e Crowley 2012). Ela influencia a dinâmica populacional e estabelece os limites de atividade biológica de insetos (Golizadeh et al. 2009). Os efeitos da temperatura sobre uma população podem ser descritos pela sobrevivência, reprodução, crescimento e desenvolvimento (Roy et al. 2002). Uma grande variedade de modelos dependentes da temperatura tem sido utilizados para descrever a relação entre a temperatura e o desenvolvimento de insetos (Yu et al. 2013). O entendimento das adaptações de insetos a diferentes condições climáticas tem influência direta sobre seu manejo, principalmente por prever o tempo de reprodução e o desenvolvimento (Golizadeh et al. 2009).

O conhecimento das exigências térmicas de parasitoides é fundamental para programas de criação massal (Mawela et al. 2013). Essas informações permitem prever e controlar a produção de parasitoides em laboratório, estabelecer a temperatura ótima para o desenvolvimento, sincronizar as criações do inseto-praga e do inimigo natural e estimar o número de gerações anuais, ou durante o ciclo de produção das culturas em uma dada região (Nava et al. 2007, Bueno et al. 2008, 2009, Pomari et al. 2012). Além disso, permite uma melhor compreensão da eficácia do parasitoide sob condições de campo, de acordo com os desafios climáticos enfrentados pelo agente de controle biológico depois da sua liberação (Altoé et al. 2012).

Para o êxito na utilização de inimigos naturais em um programa de controle biológico, é necessário determinar as características de sua população, incluindo, taxa de crescimento, fecundidade e taxa de parasitismo (Golizadeh et al. 2009). Parâmetros de tabela de vida podem fornecer uma descrição completa do desenvolvimento de uma espécie, sua sobrevivência e fecundidade sob condições ambientais determinadas, tais como condições climáticas e de alimento (Yu et al. 2013). Esses resultados obtidos podem ser utilizados como indicadores da temperatura em que o crescimento de uma população é mais favorável por refletir os efeitos da temperatura nos principais aspectos reprodutivos e de desenvolvimento (Castillo et al. 2006).

A criação de parasitoides em larga escala é fundamental para a implantação de programas de controle biológico (Bourdais et al. 2006). No entanto, na falta de dietas artificiais torna-se necessário o uso de um número expressivo de hospedeiros preferenciais ou alternativos para produção desses inimigos naturais (Milward-Deazevedo et al. 2004). A possibilidade de conservar parasitoides e seus hospedeiros em baixa temperatura, é muito

importante por permitir uma oferta constante e em número suficiente de agentes de biocontrole para programas de controle biológico (Chen et al. 2011), que poderão servir como suprimentos de reserva para compensar períodos inesperados de alta demanda por esses agentes (van Lenteren 2000). Além disso, as pupas hospedeiras já parasitadas podem ser descartadas quando a demanda por parasitoides for baixa. Portanto, encontrar métodos eficazes de armazenamento de parasitoides, bem como de seus hospedeiros é essencial para melhorar a implementação de um agente de controle biológico (Chen et al. 2008ab).

OBJETIVO

Este trabalho visa determinar o efeito da temperatura sobre o desempenho biológico de *T. howardi*, criado em pupas de *D. saccharalis* visando otimizar sua multiplicação em laboratório. Para isso foram desenvolvidos os seguintes trabalhos:

1- Exigências térmicas e estimativa do número de gerações de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) para regiões produtoras de cana-de-açúcar no Brasil;

2- Aspectos biológicos e tabela de vida de fertilidade de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) sob diferentes temperaturas;

3- Qualidade biológica de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) após o armazenamento a frio.

REFERÊNCIAS

- 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. 2012. *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitism of *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs under different temperatures. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 105: 82–89.
- BAITHA, A., JALALI, S.K., RABINDRA, R.J., VENKATESAN, T., RAO, N.S. 2004. Parasitizing efficiency of the pupal parasitoid, *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) on *Chilo partellus* (Swinhoe) at different exposure periods. *J. Biol. Control* 18: 65–68.
- BOURDAIS, D., VERNON, P., KRESPI, L., LE LANNIC, J., VAN BAAREN, J. 2006. Antennal structure of male and female *Aphidius rhopalosiphii* DeStefani-Peres (Hymenoptera: Braconidae): Description and morphological alterations after cold storage or heat exposure. *Microsc. Res. Techniq.* 69: 1005–1013.
- BUENO, R.C.O.F., CARNEIRO, T.R., PRATISSOLI, D., BUENO, A.F., FERNANDES, O.A. 2008. Biology and thermal requirements of *Telenomus remus* reared on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* eggs. *Ciênc. Rural* 38: 01–06.
- BUENO, R.C.O.F., PARRA, J.R.P., BUENO, A.F. 2009. Biological characteristics and thermal requirements of a Brazilian strain of the parasitoid *Trichogramma pretiosum* reared on eggs of *Pseudoplusia includens* and *Anticarsia gemmatilis*. *Biol. Control* 5: 355–361.
- CASTILLO, J., JACAS, J.A., PENÃ, J.E., ULMER, B.J., HALL, D.G. 2006. Effect of temperature on life history of *Quadrastichus haitiensis* (Hymenoptera: Eulophidae), an endoparasitoid of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae). *Biol. Control* 36: 189–196.
- CHEN, H., OPIT, G.P., SHENG, P., ZHANG, H. 2011. Maternal and progeny quality of *Habrobracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) after cold storage. *Biol. Control* 58: 255–261.

- CHEN, W-L., LEOPOLD, R., HARRIS, M.O. 2008a. Cold storage effects on maternal and progeny quality of *Gonatocerus ashmeadi* Girault (Hymenoptera: Mymaridae). Biol. Control 46: 122–132.
- CHEN, W-L., LEOPOLD, R.A., BOETEL, M.A. 2008b. Cold Storage of Adult *Gonatocerus ashmeadi* (Hymenoptera: Mymaridae) and Effects on Maternal and Progeny Fitness. J. Econ. Entomol. 101: 1760–1770.
- CRUZ, I., REDOAN, A.C., SILVA, R.B., FIGUEIREDO, M.L.C., PENTEADO-DIAS, A.M. 2011. New record of *Tetrastichus howardi* (Olliff) as a parasitoid of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) on maize. Sci. Agr. 68: 252–254.
- GODFRAY, H.C.J. 1994. Parasitoids, behavioral and evolutionary ecology. Princeton: Princeton University Press, 473pp.
- GOLIZADEH, A., KAMALI, K., FATHIPOUR, Y., ABBASIPOUR, H. 2009. Effect of temperature on life table parameters of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) on two brassicaceous host plants. J. Asia-Pacific Entomol. 12: 207–212.
- KFIR, R., GOUWS, S., MOORE, S.D. 1993. Biology of *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae): A facultative hyperparasitoid of stem borers. Biocontrol Sci. Technol. 3: 149–159.
- LASALLE, J., POLASZEK, A. 2007. Afrotropical species of the *Tetrastichus howardi* species group (Hymenoptera: Eulophidae). Afr. Entomol 15: 45–56.
- MAWELA, K.V., KFIR, R., KRÜGER, K. 2013. Effect of temperature and host species on parasitism, development time and sex ratio of the egg parasitoid *Trichogrammatoidea lutea* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Biol. Control 64: 211–216.
- MILWARD-DE-AZEVEDO, E.M.V., SERAFIN, I., PIRANDA, E.M., GULIAS-GOMES, C.C. 2004. Desempenho reprodutivo de *Nasonia vitripennis* Walker (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas crioconservadas de *Chrysomia megacephala* Fabricius (Diptera: Calliphoridae): Avaliacao preliminar. Cienc. Rural 34: 207–211.
- NAVA, D.E., NASCIMENTO, A.M., STEIN, C.P., HADDAD, M.L., BENTO, J.M.S., PARRA, J.R.P. 2007: Biology, thermal requirements, and estimation of the number of

generations of *Zaprionus indianus* (Diptera: Drosophilidae) for the main fig producing regions of Brazil. Fla. Entomol. 90: 495–501.

PASTORI, P.L., ZANUNIO, J.C., PEREIRA, F.F., PRATISSOLI, D., CECON, P.R. SERRÃO, J.E. 2012. Desenvolvimento e exigências térmicas de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) criado em pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). R. Bras. Bioc. 10: 79–85.

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

PINTO, A.S., CANO, M.A.V., SANTOS, E.M. 2006. 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, p. 9–13.

POMARI, A.F., BUENO, A.F., BUENO, R.C.O.F., MENEZES JUNIOR, A.O. 2012. Biological characteristics and thermal requirements of the biological control agent *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) reared on eggs of different species of the genus *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 105: 73–81.

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

ROY, M., BRODEUR, J., CLOUTIER, C. 2002. Relationship between temperature and developmental rate of *Stethorus punctillum* (Coleoptera: Coccinellidae) and its prey *Tetranychus mcdanieli* (Acarina: Tetranychidae). Environ. Entomol. 31: 177–187.

SAEKI, Y., CROWLEY, P. 2012. Temperature effects during development on a polyembryonic parasitoid and its host. J. Therm. Biol. 37: 602–607.

- SILVA-TORRES, C.S.A., PONTES, I.V.A.F., TORRES, J.B. , BARROS, R. 2010. New records of natural enemies of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) in Pernambuco, Brazil. Neotrop. Entomol. 39: 835–838.
- VACARI, A.M., GENOVEZ, G.S., LAURENTIS, V.L., DE BORTOLI, S.A. 2012. Fonte proteica na criação de *Diatraea saccharalis* e seu reflexo na produção e no controle de qualidade de *Cotesia flavipes*. Bragantia 71: 355–361.
- VAN DRIESCHE, R.G.V., BELLOWS, T.S. 1996. Biological Control. New York: Chapman & Hall. 539 pp.
- VAN LENTEREM, J.C. 2000. Controle de qualidade de agentes de controle biológico produzidos massalmente: conhecimento, desenvolvimento e diretrizes. In BUENO, V.H.P. (Ed.). Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade. Lavras: UFLA. p. 21-40.
- VARGAS, E.L., PEREIRA, F.F., TAVARES, M.T., PASTORI, P.L. 2011. Record of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Diatraea* sp. (Lepidoptera: Crambidae) in sugarcane crop in Brazil. Entomotropica 26: 143–146.
- YU, J.-Z., CHI, H., CHEN, B.-H. 2013. Comparison of the life tables and predation rates of *Harmonia dimidiata* (F.) (Coleoptera: Coccinellidae) fed on *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) at different temperatures. Biol. Control 64: 1–9.

CAPÍTULO I

Exigências térmicas e estimativa do número de gerações de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) para regiões produtoras de cana-de-açúcar no Brasil

Exigências térmicas e estimativa do número de gerações de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) para regiões produtoras de cana-de-açúcar no Brasil

Kellen FAVERO¹, Fabricio Fagundes PEREIRA¹, Patrícia Paula BELLON¹, Harley Nonato de OLIVEIRA², Samir Oliveira KASSAB¹

¹Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, 79804-970, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil; e-mail: kellenfaver0@yahoo.com.br; fabriciofagundes@ufgd.edu.br; phatriciabellon@yahoo.com.br; samirkassab@gmail.com

²Embrapa Agropecuária Oeste, Caixa Postal 449, CEP 79804-970 Dourados, MS, Brazil; e-mail: harley.oliveira@embrapa.br

Resumo: *Tetrastichus howardi* (Olliff) é um inimigo natural promissor para o controle biológico de *Diatraea saccharalis* (Fabricius), o principal lepidóptero praga da cana-de-açúcar no Brasil. O desenvolvimento e as exigências térmicas de *T. howardi* foram determinados em pupas de *D. saccharalis* submetidas a diferentes temperaturas (16, 19, 22, 25, 28, 31 e 33°C). A duração do ciclo biológico (ovo-adulto) e a longevidade de adultos de *T. howardi* foram inversamente proporcionais ao aumento da temperatura. Este parasitoide não completou seu desenvolvimento a 33°C, porém houve 100% de emergência para as demais temperaturas. A progênie de *T. howardi* variou de $78,2 \pm 3,53$ (16°C) a $101,04 \pm 4,27$ (25°C) indivíduos por fêmea, sem apresentar diferenças significativas entre os tratamentos ($P > 0,05$). A temperatura base (T_b) e a constante térmica (K) foram de 9,66°C e 292,89 graus-dia (GD), respectivamente. O número estimado de gerações de *T. howardi* por ano para o município de Dourados - MS foi de 15,86, enquanto *D. saccharalis* não excede 6,23 gerações anuais. O desempenho satisfatório de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis* nas temperaturas entre 16 e 31°C é um indicativo de que este parasitoide conseguirá se desenvolver em regiões produtoras de cana-de-açúcar que apresentam amplitude térmica semelhante à estudada.

Palavras chave: pragas da cana-de-açúcar, constante térmica, parasitoide pupal, temperatura base.

Abstract: A natural enemy of *Diatraea saccharalis* (Fabricius), the major lepidopteran pest of sugar cane in Brazil, *Tetrastichus howardi* (Olliff) holds much promise as a

biological control. On recording the development and the thermal requirements of the *T. howardi* in the pupae of *D. saccharalis* at different temperatures viz., at 16, 19, 22, 25, 28, 31 and 33°C, it was found that the life cycle from the egg to the adult stages, as well as the adult longevity of *T. howardi* were inversely proportional to the increase in temperature. At 33°C, the development of this parasitoid was still incomplete; however, at the other temperatures, 100% emergence was recorded. The temperature range of the *T. howardi* progeny hovered between 78.2 ± 3.53 (16°C) and 101.04 ± 4.27 (25°C) for the females, with no differences observed among the treatments ($P>0.05$). The base temperature (T_b) and thermal constant (K) remained at 9.66°C and 292.89 degree-days (GD), respectively. The estimated annual number of *T. howardi* generations to the Dourados - MS was 15.86, while *D. saccharalis* did not exceed 6.23 generations per year. Thus the good performance of *T. howardi* in the pupae of *D. saccharalis* between 16 and 31°C indicates that this parasitoid can develop in different parts of the cane sugar, at the present temperature range similar to that studied

Keywords: biology, development, base temperature, thermal constant.

Introdução

A broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) é considerada a principal praga da cultura da cana-de-açúcar no Brasil, devido a sua ampla distribuição e danos causados (Bellini e Dolinski 2012). As lagartas desse inseto se desenvolvem no interior dos colmos das plantas, dificultando a eficiência de controle com produtos químicos (Vacari et al. 2012). Dessa forma, o controle biológico com uso de parasitoides tem sido enfatizado como uma alternativa promissora para o controle de *D. saccharalis* (Dias et al. 2011, Vacari et al. 2012, Rodrigues et al. 2013), por reduzir os danos causados pela praga e manter a viabilidade econômica do sistema produtivo, sem causar impactos negativos.

O uso de agentes de controle biológico é dependente do conhecimento de suas características biológicas e suas interações com o hospedeiro (Altoé et al. 2012, Pastori et al. 2012). Dessa forma, estudos de laboratório são cruciais para avaliar adequadamente a biologia do parasitoide, sua capacidade de parasitismo e seu ciclo biológico, entre outras características que podem variar de acordo com o hospedeiro e temperatura (Pereira et al. 2011, Pomari et al. 2012, Mawela et al. 2013).

O endoparasitoide gregário, *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) tem sido registrado associado a pragas de culturas importantes (González et al. 2003, Baitha et al. 2004, La Salle e Polaszek 2007, Prasad et al. 2007, Silva-Torres et al. 2010, Cruz et al. 2011). Esse inimigo natural parasita e se desenvolve em lagartas e pupas de *D. saccharalis* (Vargas et al. 2011), indicando seu potencial de utilização no controle biológico dessa importante praga na cultura da cana-de-açúcar. Atributos adicionais importantes desse parasitoide são o seu curto ciclo de vida, alta taxa de fecundidade e longevidade, predominância de fêmeas, facilidade de criação em laboratório e capacidade de penetrar nas galerias produzidas pelas pragas, nas plantas, em busca de seus hospedeiros (Kfir et al. 1993, Baitha et al. 2004, Prasad et al. 2007, Cruz et al. 2011, Vargas et al. 2011).

O sucesso na introdução ou no desenvolvimento de um programa de controle biológico com parasitoides, depende do conhecimento de suas exigências térmicas (Pastori et al. 2008, Iranipour et al. 2010, Pereira et al. 2011, Mawela et al. 2013, Rodrigues et al. 2013). Uma vez que, essas informações possibilitam prever e controlar sua produção em laboratório, estabelecer a temperatura ótima para o desenvolvimento, o sincronismo das criações do inseto-praga e do inimigo natural e estimar o número de gerações anuais ou durante o ciclo de produção das culturas em uma dada região (Nava et al. 2007, Bueno et al. 2008, 2009, Pomari et al. 2012). Além disso, permite uma melhor compreensão da eficácia do parasitoide sobre condições de campo, de acordo com os desafios climáticos enfrentados pelo agente de controle biológico depois da sua liberação (Altoé et al. 2012).

As exigências térmicas de *T. howardi* foram determinadas em hospedeiros e temperaturas diferentes na África (Kfir et al. 1993) e em Cuba (González 2004). Entretanto no Brasil, devido ao recente relato da ocorrência desse parasitoide, os poucos trabalhos de pesquisa sobre esse inseto referem-se a sua ocorrência natural ou a aspectos biológicos (Silva-Torres et al. 2010, Cruz et al. 2011, Vargas et al. 2011). Não se tem conhecimento de resultados de pesquisas nacionais mencionando o efeito da temperatura no desempenho biológico de *T. howardi*. Assim, este estudo visa avaliar o efeito da temperatura na biologia de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis*, determinar suas exigências térmicas, e estimar o número de gerações desse parasitoide para algumas localidades produtoras de cana-de-açúcar no Brasil.

Material e métodos

Local de condução dos experimentos

O experimento foi conduzido nos Laboratórios de Entomologia e de Controle Biológico da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) - Centro de Pesquisa Agropecuária do Oeste (CPAO), em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, com as seguintes etapas:

Multiplicação do hospedeiro *D. saccharalis*

Os ovos de *D. saccharalis* foram provenientes da criação estoque mantida no Laboratório de Entomologia da Embrapa Agropecuária Oeste (CPAO). Esses ovos foram mergulhados em solução de sulfato de cobre e água a 1%, para desinfecção, e colocados em placas de Petri (9 cm de diâmetro) forradas com papel filtro umedecido. As placas com os ovos foram mantidas em câmara climatizada a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotofase de 12 h até a eclosão das lagartas. As lagartas recém eclodidas foram transferidas para tubos de vidro (8,5 cm altura x 2,5 cm diâmetro) contendo dieta artificial (Adaptado de Parra 2007), na densidade de quatro lagartas por tubo, onde permaneceram até a formação de pupas. As pupas foram retiradas da dieta, sexadas e colocadas na densidade de 24 pupas (12 fêmeas e 12 machos) por gaiola de PVC (20 cm altura x 10 cm diâmetro). Na parte interna da gaiola foram colocadas folhas de papel jornal umedecidas, como substrato para oviposição. As gaiolas foram colocadas sobre placas de Petri (12 cm de diâmetro) forradas com papel-filtro. A abertura superior das gaiolas de PVC foi fechada com tecido do tipo “voil” preso com elástico. Os adultos emergidos foram alimentados com solução aquosa de mel a 10%, colocada em recipientes plásticos cilíndricos (4 cm altura x 5 cm diâmetro) e fornecida aos insetos, por capilaridade, por meio de um chumaço de algodão inserido nos recipientes (Adaptado de Parra 2007).

Multiplicação do parasitoide *T. howardi*

A criação de *T. howardi* foi iniciada com adultos provenientes da criação estoque do Laboratório de Entomologia/Controle Biológico (LECOBIOL) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, MS. A multiplicação da população de *T. howardi* foi feita com fêmeas de 24 h de idade, individualizadas e expostas a pupas de *D. saccharalis* de mesma idade, empregando tubos de vidro (8,5 cm altura x 2,5 cm de diâmetro) fechados com algodão hidrófilo. A alimentação das fêmeas do parasitoide foi feita com gotículas de mel puro dispersas no interior do tubo de vidro (Vargas et al. 2011). A criação foi conduzida em sala climatizada a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 h.

Efeito da temperatura no desenvolvimento de *T. howardi*

Pupas de *D. saccharalis*, com 24 horas de idade e com peso entre 0,230g e 0,260g (para evitar grande variação na biomassa do hospedeiro), foram individualizadas em tubos de vidro (8,5 cm altura x 2,5 cm diâmetro), com uma fêmea de *T. howardi* de mesma idade, sendo permitido o parasitismo por 24 horas, em câmara climatizada, regulada na temperatura de 25°C, $26 \pm 1\%$ de umidade relativa e fotofase de 12 horas. Ao final desse período, as fêmeas foram retiradas dos tubos e as pupas parasitadas foram transferidas para câmaras climatizadas nas temperaturas de 16, 19, 22, 25, 28, 31 e 33°C, $26 \pm 1\%$ de umidade relativa e fotofase de 12 horas, onde permaneceram até a emergência dos adultos do parasitoide.

Para cada temperatura estudada foram avaliadas a duração do ciclo de vida (da exposição da pupa ao parasitismo até a emergência de adultos do parasitoide); a porcentagem de emergência [(número de pupas de *D. saccharalis* com emergência de adultos do parasitoide) / (número de pupas parasitadas) x 100]; o número de parasitoides emergidos (progênie); a razão sexual ($= \frac{\text{fêmeas}}{\text{fêmeas} + \text{machos}}$); o número de imaturos que não completaram seu desenvolvimento e a longevidade de fêmeas (período da emergência até a morte dos adultos). A separação de machos e fêmeas dos parasitoides foi feita com base nas características morfológicas da antena (fêmeas possuem antenas com flagelo marrom escuro, enquanto machos possuem antenas com flagelo de coloração clara, normalmente amarelado, com um segmento a mais de cor marrom escuro e/ou preto) (La Salle e Polaszek 2007). A mortalidade natural das pupas de *D. saccharalis* foi calculada nas mesmas condições ambientais do experimento e empregada para corrigir a mortalidade ocasionada pelo parasitoide (Abbott 1925). Para tanto, 20 pupas sem parasitismo foram individualizadas em tubos de vidro (8,5 cm altura x 2,5 cm diâmetro), e submetidas as mesmas condições ambientais dos experimentos. O número de adultos de *D. saccharalis* emergidos foi determinado. Para determinação da longevidade de adultos de *T. howardi*, 20 fêmeas e 20 machos foram escolhidos ao acaso nos descendentes de cada tratamento e individualizados em tubos de vidro (8,5 cm altura x 2,5 cm diâmetro), sendo alimentados com gotículas de mel puro dispersas no interior do tubo de vidro.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com sete tratamentos e dez repetições, sendo cada repetição, representada por um grupo de cinco pupas de *D. saccharalis* individualizadas, totalizando 50 pupas por tratamento. Os dados de emergência, duração do ciclo de vida, número de parasitoides emergidos por pupa de *D. saccharalis*, razão sexual, longevidade de fêmeas de *T. howardi* foram submetidos à análise

de variância e, quando significativo a 5% de probabilidade foi realizada a análise de regressão. A equação que melhor se ajustou aos dados foi escolhida com base no coeficiente de determinação (R^2), na significância dos coeficientes de regressão (β_i) e na análise de variância de regressão pelo teste F (ao nível de 5% de probabilidade).

Determinação das exigências térmicas e estimativa do número de gerações de *T. howardi*.

A temperatura base (T_b) e a constante térmica (K) foram calculadas pelo método da hipérbole (Haddad et al. 1999), através do programa Mobae, baseando-se na duração do ciclo (ovo-adulto) de *T. howardi* nas temperaturas testadas.

O número de gerações anuais desse parasitoide foi estimado para os municípios de Jaboticabal-SP, Uberaba-MG, Itumbiara-GO, Campo Mourão-PR e Dourados-MS, que representam importantes regiões produtoras de cana-de-açúcar no Brasil. Para isso, foi utilizada a equação: $NG = \{T(T_m - T_b)/K\}$, onde: K = constante térmica, T_m = a temperatura média para cada localidade estudada, T_b = temperatura base e T = número de dias por mês, baseando-se nas normais térmicas dessas localidades. Os dados climáticos referentes aos últimos dez anos das localidades estudadas foram fornecidas pelo Instituto Nacional de Meteorologia (INMET).

Resultados

Efeito da temperatura no desenvolvimento de *T. howardi*

A duração do ciclo de vida (ovo-adulto) de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis* apresentou relação inversa com a elevação da temperatura ($F = 15,91$; $P = 0,01$ $r^2 = 0,80$), e variou de $53,16 \pm 0,88$ a $15,07 \pm 0,09$ dias na faixa térmica de 16 a 31°C, respectivamente (Fig.1). O parasitoide não completou seu desenvolvimento em pupas de *D. saccharalis* a 33°C.

A emergência de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis* foi de 100% para as temperaturas entre 16 e 31°C. O número de descendentes emergidos por pupa de *D. saccharalis* foi semelhante entre as temperaturas testadas ($P > 0,05$), com $78,2 \pm 3,53$ (16°C), $88,34 \pm 0,82$ (19°C), $86,03 \pm 1,40$ (22°C), $101,04 \pm 4,27$ (25°C), $85,67 \pm 1,10$ (28°C) e $87,46 \pm 1,14$ (31°C) parasitoides por pupa.

O número de imaturos de *T. howardi* encontrados no interior das pupas de *D. saccharalis* foi semelhante ($P > 0,05$) na faixa térmica de 16 a 31°C e apresentou valores de $1,34 \pm 0,68$; $0,10 \pm 0,19$; $0,11 \pm 0,15$; $0,12 \pm 0,10$; $0,40 \pm 0,59$; $0,40 \pm 0,37$ nas

temperaturas testadas. A razão sexual de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis* foi de $0,96 \pm 0,01$, não existindo diferença significativa ($P > 0,05$) entre as temperaturas.

A longevidade de fêmeas de *T. howardi* provenientes de pupas de *D. saccharalis* decresceu com o aumento da temperatura ($F = 8,00$; $P = 0,04$; $r^2 = 0,67$) (Fig. 2).

Determinação das exigências térmicas e estimativa do número de gerações de *T. howardi*.

As exigências térmicas para a fase imatura de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis* foi baseada no modelo $Y = (1/D) = -0,032993 + 0,003414x$ ($R^2 = 95,09$), cujos valores para a temperatura base (T_b) e constante térmica (K) foram de $9,66^\circ\text{C}$ e $292,89$ graus-dia (GD), respectivamente (Fig. 3). O número estimado de gerações de *T. howardi* por ano para o municíios de Dourados foi de 15,86, e a de *D. saccharalis* não excede 6,23 gerações anuais (Fig. 4). Para os municípios de Jaboticabal-SP, Uberaba-MG, Itumbiara-GO, Campo Mourão-PR, o número estimado de gerações *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis* ao longo do ano foi de 16,04; 16,20; 17,97; 13,29 respectivamente (Fig. 5).

Discussão

Foi observada uma relação inversa entre a temperatura e a velocidade de desenvolvimento de *T. howardi* criado em pupas de *D. saccharalis*. Resultados semelhantes foram encontrados para este parasitoide quando parasitando pupas de *Helicoverpa (Heliothis) armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) (Kfir et al. 1993) e *Galleria mellonella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Pyralidae) (González, 2004). Entretanto, diferenças foram observadas quando comparadas as durações dos ciclos biológicos de *T. howardi* entre estes hospedeiros em cada temperatura. Isso indica que, a variação na duração do ciclo (ovo-adulto) de parasitoides não depende somente da temperatura, mas também do hospedeiro (Pereira et al. 2011, Pomari et al. 2012, Mawela et al. 2013), da sua origem (Iranipour et al. 2010), da cultura em que foi coletado (Pastori et al. 2008) e da adaptação do parasitoide (Altoé et al. 2012).

Os altos índices de emergência de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis* nas temperaturas entre 16 e 31°C , demonstram que esse parasitoide pode ser criado nessa faixa térmica, sem comprometer a qualidade de seu desenvolvimento. Entretanto, Kfir et al. (1993) observaram efeito prejudicial da temperatura de 30°C para *T. howardi* em pupas de *H. armigera*, pois nessa condição a emergência do parasitoide foi drasticamente reduzida.

Uma das justificativas para esse fato é que os primeiros indivíduos de *T. howardi* coletados no campo e que originaram a população desse parasitoide, que atualmente é criado em laboratório, foram obtidos de pupa de *Diatraea* sp. em Dourados, Mato Grosso do Sul (Vargas et al. 2011), município com temperatura máxima média anual de 29,4°C e mínima média anual de 17,4°C (Embrapa Agropecuária Oeste). Assim, estes indivíduos poderiam estar adaptados a diferentes temperaturas. Isto é importante, pois permite supor que *T. howardi* tem uma elevada plasticidade térmica, podendo ser utilizado em regiões com climas diferentes, o que aumenta a probabilidade de êxito na sua utilização em programas de controle biológico. Entretanto, a liberação de parasitoides em campo deve ser realizada levando-se em consideração os limites térmicos do inimigo natural, para que o seu estabelecimento e eficiência sejam maiores (Jacas et al. 2008, Pandey e Tripathi 2008). Sempre que possível, essas liberações devem ser realizadas dando-se preferência aos horários da manhã ou entardecer (Oliveira et al. 2012, Rodrigues et al. 2013).

Os valores de emergência de *T. howardi* encontrados em pupas de *D. saccharalis* foram superiores aos relatados por Kfir et al. (1993) em pupas de *H. armigera*, para todas as temperaturas avaliadas. Esses resultados podem ser atribuídos ao fato de que *T. howardi* foi coletado e mantido em laboratório no mesmo hospedeiro em que este experimento foi desenvolvido. Por outro lado, os parasitoides utilizados por Kfir et al. (1993) foram oriundos de hospedeiros diferentes daqueles nos quais o experimento foi conduzido. Moore e Kfir (1995) observaram que fêmeas de *T. howardi* apresentam preferência pelo hospedeiro no qual foram criadas quando expostas a vários hospedeiros. Fêmeas parasitoides tem preferência por hospedeiros nos quais se desenvolveram devido aos padrões fixados no genótipo da espécie e por experiência obtida no processo de parasitismo e desenvolvimento (Beserra e Parra 2003). Diferenças na porcentagem de emergência podem também ser atribuídas a uma melhor adaptação do parasitoide ao hospedeiro, de acordo com sua qualidade nutricional (Bueno et al. 2009, Altoé et al. 2012, Mawela et al. 2013). Vale ressaltar ainda que, indivíduos provenientes de populações de parasitoides originadas de regiões climaticamente diferentes, podem apresentar diferenças, tanto em suas características biológicas, quanto na resposta ao serem multiplicados em diferentes temperaturas, devido às adaptações às condições climáticas da área geográfica de origem (Sampaio et al. 2005).

A não emergência de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis* observada a 33°C, evidencia que temperaturas constantes acima de 31°C não são adequadas para criação do parasitoide. Por outro lado, Kfir et al. (1993) relataram que temperaturas superiores a 30°C

tendem a reduzir a sobrevivência da fase imatura desse parasitoide. Assim, populações de *T. howardi* podem apresentar resposta diferenciada a temperatura, com diferentes limites superiores. O efeito prejudicial da temperatura acima de 30°C também foi relatado para outros eulophídeos, pois nessa condição não ocorreu emergência dos parasitoides *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov) (Ferreira et al. 2003), *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Pereira et al. 2011) e *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Pastori et al. 2012, Rodrigues et al. 2013). Isso evidencia que essa população de *T. howardi* apresenta maior faixa de temperatura ideal de desenvolvimento, sugerindo que esse parasitoide conseguirá se desenvolver em diferentes regiões produtoras de cana-de-açúcar. Temperaturas fora da faixa ideal interferem nas características biológicas de parasitoides (Melo et al. 2007). Entretanto, é importante ressaltar que, temperaturas mais elevadas afetam negativamente estágios iniciais do ciclo de vida de parasitoides (Krugner et al. 2007); assim, esses inimigos naturais podem completar seu desenvolvimento em condições de campo em temperaturas acima de 31°C desde que essas temperaturas não coincidam com os estágios iniciais de desenvolvimento do parasitoide (Jacas et al. 2008, Pastori et al. 2012, Rodrigues et al. 2013).

A ausência da influência da temperatura sobre o número de indivíduos emergidos, o número de imaturos encontrados no interior das pupas de *D. saccharalis* e a razão sexual dos descendentes, é um resultado desejável, pois reforçam a adequabilidade desse hospedeiro ao desenvolvimento de *T. howardi*. Além disso, o fato da temperatura não ter afetado a razão sexual é importante por indicar que a variação na temperatura pode não ser determinante para alterar o número de fêmeas do parasitoide em condição de campo (Melo et al. 2007, Pomari et al. 2012), característica importante, pois são as fêmeas as responsáveis pelo parasitismo e por consequência a diminuição da população do inseto-praga.

A relação inversa entre a temperatura e a longevidade de parasitoides é relatada por outros autores (Ferreira et al. 2003, Iranipour et al. 2010, Pereira et al. 2011, Pomari et al. 2012, Rodrigues et al. 2013). Entretanto, mesmo em temperaturas superiores onde a longevidade é menor, a duração da fase adulta é suficiente para que, quando liberados, os parasitoides encontrem seus hospedeiros e se reproduzam (Chichera et al. 2012). Além disso, essa longevidade pode ser maior no ambiente, pois a escassez de hospedeiro pode estimular o parasitoide a continuar procurando por maior tempo, controlando a ovulação ou reabsorvendo ovos e aumentando sua longevidade (Silva-Torres et al. 2009). Por outro lado, a maior longevidade de *T. howardi* nas temperaturas menores, pode ser uma

importante informação para a criação massal desse inimigo natural. Temperaturas menores podem retardar o metabolismo de parasitoides e, portanto, mantê-los em desenvolvimento por um período mais longo, para uma posterior utilização na manutenção da população em laboratório ou liberação no campo (Pomari et al. 2012).

Os valores de limite térmico inferior (T_b) e a constante térmica (K) de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis* diferem dos obtidos por Kfir et al. (1993) e González (2004) para outros hospedeiros. Kfir et al. (1993) obtiveram temperatura base de 12,8°C e constante térmica de 239,8 graus-dia, quando avaliaram o desenvolvimento desse parasitoide em pupas de *H. armigera*, enquanto González (2004) obteve valores de 10,1°C e 232,6 graus-dia para *T. howardi* em pupas de *G. mellonella*. Ressalta-se que as variações entre os valores de temperatura base (T_b) e constante térmica (K) indicam a influência do hospedeiro utilizado (Pastori et al. 2012, Mawela et al. 2013), local de coleta do parasitoide (Jacas et al. 2008, Pastori et al. 2008, Iranipour et al. 2010) e da adaptação do parasitoide ao hospedeiro (Bueno et al. 2009, Altoé et al. 2012) nas exigências térmicas.

Nas condições de temperaturas estudadas, *T. howardi* se desenvolve mais rápido que seu hospedeiro *D. saccharalis*, uma vez que, esse parasitoide apresenta exigências térmicas inferiores ao do hospedeiro, o qual possui $T_b = 13,4^\circ\text{C}$ e $K = 526,3$ graus-dia (De Conti 2012). Essa característica é importante em um programa de controle biológico, pois o desenvolvimento mais rápido do parasitoide permite que o mesmo tenha um número de gerações maior que o hospedeiro na mesma temperatura (Pastori et al. 2012), podendo estabilizar ou reduzir a densidade populacional desse hospedeiro no campo (Pastori et al. 2008, Pereira et al. 2011). Entretanto, vale ressaltar que o número de gerações poderá ser influenciado também por outros fatores como a umidade do ar, o fotoperíodo e a disponibilidade e qualidade de hospedeiros (Santana et al. 2010, Altoé et al. 2012). Porém a temperatura é o principal fator limitante aos insetos (Saeki e Crowley 2012) quando as condições citadas anteriormente são favoráveis (Santana et al. 2010).

O estudo das características biológicas e exigências térmicas de *T. howardi* em diferentes temperaturas, fornece informações importantes para a multiplicação desse parasitoide em condições de laboratório. Além disso, os resultados apresentados revelam a capacidade da população do parasitoide em se desenvolver sob ampla faixa de temperatura, sendo indicativo de que *T. howardi* será capaz de se adaptar a diferentes regiões produtoras de cana-de-açúcar cuja amplitude térmica seja semelhante à estudada.

Conclusões

Temperaturas entre 16 e 31°C são favoráveis ao desenvolvimento de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis*.

Tetrastichus howardi apresenta maior número de gerações anuais em relação ao seu hospedeiro natural *D. saccharalis*.

Referências

- 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. 2012. *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitism of *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs under different temperatures. Ann. Entomol. Soc. Am. 105: 82–89.
- BAITHA, A., JALALI, S.K., RABINDRA, R.J., VENKATESAN, T., RAO, N.S. 2004. Parasitizing efficiency of the pupal parasitoid, *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) on *Chilo partellus* (Swinhoe) at different exposure periods. J. Biol. Control 18: 65–68.
- BELLINI, L.L., DOLINSKI, C. 2012. Foliar application of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) for the control of *Diatraea saccharalis* in greenhouse. Semina: Ci. Agr. 33: 997–1004.
- BESERRA, E.B., PARRA, J.R.P. 2003. Comportamento de parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em posturas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae). Rev. Bras. Entomol. 47: 205–209.
- BUENO, R.C.O.F., CARNEIRO, T.R., PRATISSOLI, D., BUENO, A.F., FERNANDES O.A. 2008. Biology and thermal requirements of *Telenomus remus* reared on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* eggs. Ciênc. Rural 38: 01–06.
- BUENO, R.C.O.F., PARRA, J.R.P., BUENO, A.F. 2009. Biological characteristics and thermal requirements of a Brazilian strain of the parasitoid *Trichogramma pretiosum* reared on eggs of *Pseudoplusia includens* and *Anticarsia gemmatilis*. Biol. Control 5: 355–361.
- CHICHERA, R.A., PEREIRA, F.F., KASSAB, S.O., BARBOSA, R.H., PASTORI, P.L., ROSSONI, C. 2012. Capacidade de busca e reprodução de *Trichospilus diatraeae* e *Palmistichus elaeis* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). Interciência 37: 852–856.
- CRUZ, I., REDOAN, A.C., SILVA, R.B., FIGUEIREDO, M.L.C., PENTEADO-DIAS, A.M. 2011. New record of *Tetrastichus howardi* (Olliff) as a parasitoid of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) on maize. Sci. Agr. 68: 252–254.

- DE CONTI, B.F. 2012. Exigências Térmicas e Monitoramento de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), como Suporte ao seu Controle Biológico. (Tese: Doutor em Entomologia). USP, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", São Paulo, SP, 122 pp.
- DIAS, N.S., BROGLIO-MICHELETTI, S.M.F., FARIAS, N.R.M., DA COSTA, S.S., DOS SANTOS, J.M., LOPES, D.O.P., COSTA, V.A. 2011. Ocorrência de *Telenomus alecto* Crawford, 1914 (Hymenoptera: Scelionidae) em ovos de *Diatraea* spp. (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar no estado de Alagoas, Brasil. Idesia 29: 95–97.
- FERREIRA, S.W.J., BARROS, R., TORRES, J.B. 2003. Exigências térmicas e estimativa do número de gerações de *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Eulophidae), para regiões produtoras de crucíferas em Pernambuco. Neotrop. Entomol. 32: 407–411.
- GONZÁLEZ, J.F.A. 2004. Estudios Bioecológicos, Reproducción Artificial y Liberación de *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae), Parasitoide Pupal de *Diatraea saccharalis* (Fab.) en Cuba. Tese (Doutorado em Ciências Agrícolas). Universidad Central de Las Villas, Santa Clara, Cuba, 179 pp.
- GONZÁLEZ, J.F.A., MONTES DE OCA, F.N., RAVELO, H.G. 2003. *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae): nuevo parásito pupal de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) en Cuba. Centro Agri. 30: 93–93.
- HADDAD, M.L., PARRA, J.R.P., MORAES, R.C.B. 1999. Métodos para Estimar os Limites Térmicos Inferior e Superior de Desenvolvimento de Insetos. FEALQ, Piracicaba, Brazil, 29 pp.
- IRANIPOUR, S., BONAB, Z.N., MICHAUD, J.P. 2010. Thermal requirements of *Trissolcus grandis* (Hymenoptera: Scelionidae), an egg parasitoid of sunn pest. Eur. J. Entomol. 107: 47–53.
- JACAS, J.A., PEÑA, J.E., DUNCAN, R.E., ULMER, B.J. 2008. Thermal requirements of *Fidiobia dominica* (Hymenoptera: Platygasteridae) and *Haeckeliana sperata* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), two exotic egg parasitoids of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae). BioControl 53: 451–460.

- KFIR, R., GOUWS, S., MOORE, S.D. 1993. Biology of *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae): A facultative hyperparasitoid of stem borers. *Biocontrol Sci. Technol.* 3: 149–159.
- KRUGNER, R., DAANE, K.M., LAWSON, A.B., YOKOTA, G.Y. 2007. Temperature-dependent development of *Macrocentrus iridescens* (Hymenoptera: Braconidae) as a parasitoid of the obliquebanded leafroller (Lepidoptera: Tortricidae): Implications for field synchrony of parasitoid and host. *Biol. Control* 42: 110–118.
- LA SALLE, J., POLASZEK, A. 2007. Afrotropical species of the *Tetrastichus howardi* species group (Hymenoptera: Eulophidae). *Afr. Entomol* 15: 45–56.
- MAWELA, K.V., KFIR, R., KRÜGER, K. 2013. Effect of temperature and host species on parasitism, development time and sex ratio of the egg parasitoid *Trichogrammatoidea lutea* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Biol. Control* 64: 211–216.
- MELO, R.L., PRATISSOLI, D., POLANCZYK, R.A., MELO, D.F., BARROS, R., MILANEZ, A.M. 2007. Biologia e exigências térmicas de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Diaphania hyalinata* L. (Lepidoptera: Pyralidae). *Neotrop. Entomol.* 36: 31–435.
- MOORE, S.D., KFIR, R. 1995. Host preference of the facultative hyperparasitoid *Tetrastichus howardi* (Hym.: Eulophidae) *Entomophaga* 40: 69–76.
- NAVA, D.E., NASCIMENTO, A.M., STEIN, C.P., HADDAD, M.L., BENTO, J.M.S., PARRA, J.R.P. 2007. Biology, thermal requirements, and estimation of the number of generations of *Zaprionus indianus* (Diptera: Drosophilidae) for the main fig producing regions of Brazil. *Fla. Entomol.* 90: 495–501.
- OLIVEIRA, H.N., GLAESER, D.F., BELLON P.P. 2012. Recomendações Para Obter um Controle Biológico Mais Eficaz da Broca-da-Cana-de-Açúcar. Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados, MS, 8pp. Comunicado Técnico, 181.
- PANDEY, A.K., TRIPATHI, C.P.M. 2008. Effect of temperature on the development, fecundity, progeny sex ratio and life-table of *Campoletis chloridae*, an endolarval parasitoid of the pod borer, *Helicoverpa armigera*. *BioControl* 53: 461–471.

- PARRA, J.R.P. 2007. Técnicas de Criação de Insetos para Programa de Controle Biológico. 6ª ed. ESALQ/FEALQ, Piracicaba, SP. 134 pp.
- PASTORI, P.L., MONTEIRO, L.B., BOTTON, M. 2008. Biologia e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) "linhagem bonagota" criado em ovos de *Bonagota salubricola* (Meyrick) (Lepidoptera, Tortricidae). Rev. Bras. Entomol. 52: 472–476.
- PASTORI, P.L., ZANUNCIO, J.C., PEREIRA, F.F., PRATISSOLI, D., CECON, P.R., SERRÃO, J.E. 2012. Desenvolvimento e exigências térmicas de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) criado em pupas de *Anticarsia gemmatilis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). R. Bras. Bioc. 10: 79–85.
- PEREIRA, F.F., ZANUNCIO, J.C., OLIVEIRA, H.N., GRANCE, E.L.V., PASTORI, P.L., GAVA-OLIVEIRA, M.D. 2011. Thermal requirements and estimate number of generations of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) in different *Eucalyptus* plantations regions. Brazilian J. Biol. 71: 431–436.
- POMARI, A.F., BUENO, A.F., BUENO, R.C.O.F., MENEZES JUNIOR, A.O. 2012. Biological characteristics and thermal requirements of the biological control agent *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) reared on eggs of different species of the genus *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 105: 73–81.
- PRASAD, K.S., ARUNA, A.S., KUMAR, V., KARIAPPA, B.K. 2007. Feasibility of mass production of *Tetrastichus howardi* (Olliff), a parasitoid of leaf roller (*Diaphania pulverulentalis*), on *Musca domestica* (L.). Indian J. Seric. 46: 89–91.
- RODRIGUES, M.A.T., PEREIRA, F.F., KASSAB, S.O., PASTORI, P.L., GLAESER, D.F., OLIVEIRA, H.N., ZANUNCIO, J.C. 2013. Thermal requirements and generation estimates of *Thichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) in sugarcane producing regions of Brazil. Fla Entomol. 96: 154–159.
- SAEKI, Y., CROWLEY, P. 2012. Temperature effects during development on a polyembryonic parasitoid and its host. J. Therm. Biol. 37: 602–607.

- SAMPAIO, M.V., BUENO, V.H.P., RODRIGUES, S.M.M., SOGLIA, M.C.M. 2005. Resposta à temperatura de *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae) originário de três regiões climáticas de Minas Gerais, Brasil. Rev. Bras. Entomol. 49: 141–147.
- SANTANA, S.W.J., BARROS, R., TORRES, J.B., GONDIM JR, M.G.C. 2010. Exigências térmicas da praga do coqueiro *Atheloca subrufella* (Hulst) (Lepidoptera: Phycitidae). Neotrop. Entomol. 39: 181–186.
- SILVA-TORRES, C.S.A., BARROS, R., TORRES, J.B. 2009. Efeito da idade, fotoperíodo e disponibilidade de hospedeiro no comportamento de parasitismo de *Oomyzus sokolowskii* Kurdjumov (Hymenoptera: Eulophidae). Neotrop. Entomol. 38: 512–519.
- SILVA-TORRES, C.S.A., PONTES, I.V.A.F., TORRES, J.B., BARROS, R. 2010. New records of natural enemies of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) in Pernambuco, Brazil. Neotrop. Entomol. 39: 835–838.
- VACARI, A.M., GENOVEZ, G.S., LAURENTIS, V.L., DE BORTOLI, S.A. 2012. Fonte proteica na criação de *Diatraea saccharalis* e seu reflexo na produção e no controle de qualidade de *Cotesia flavipes*. Bragantia 71: 355–361.
- VARGAS, E.L., PEREIRA, F.F., TAVARES, M.T., PASTORI, P.L. 2011. Record of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Diatraea* sp. (Lepidoptera: Crambidae) in sugarcane crop in Brazil. Entomotropica 26: 143–146.

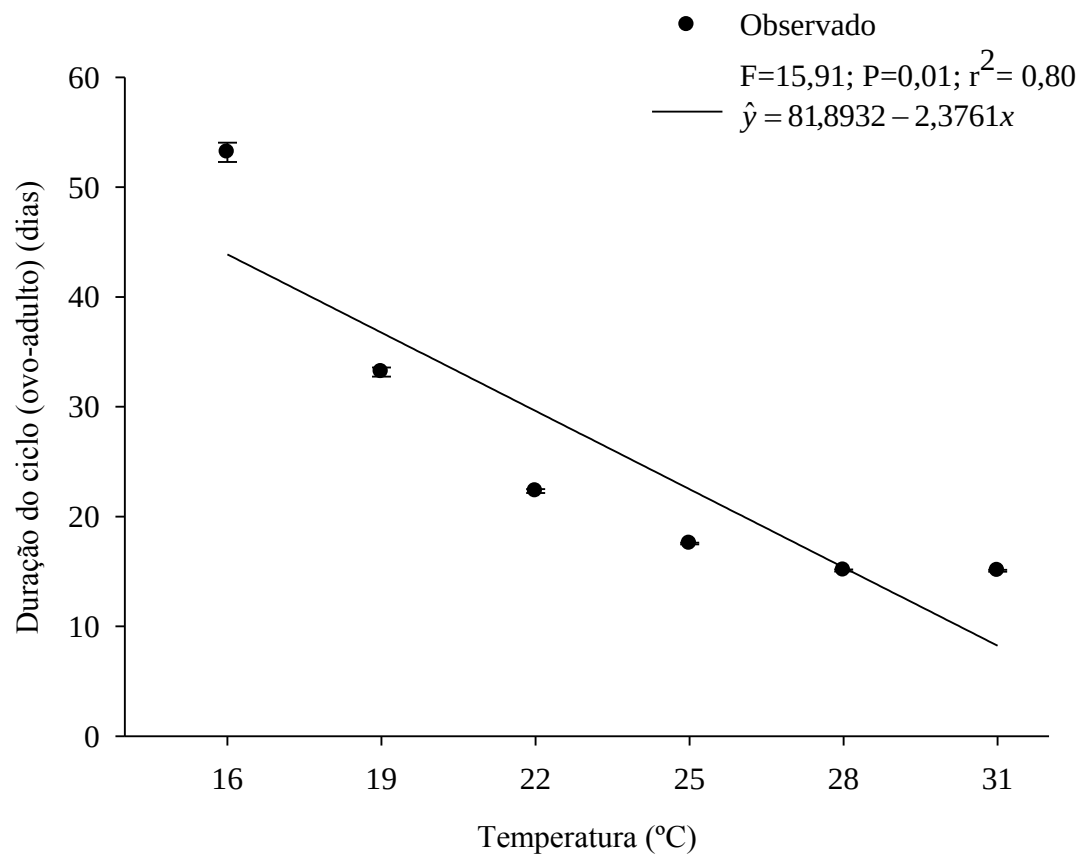


Fig. 1. Duração do ciclo de vida de ovo a adulto (dias) de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em seis temperaturas constantes, U.R. de $26 \pm 1\%$ e fotofase de 12 h.

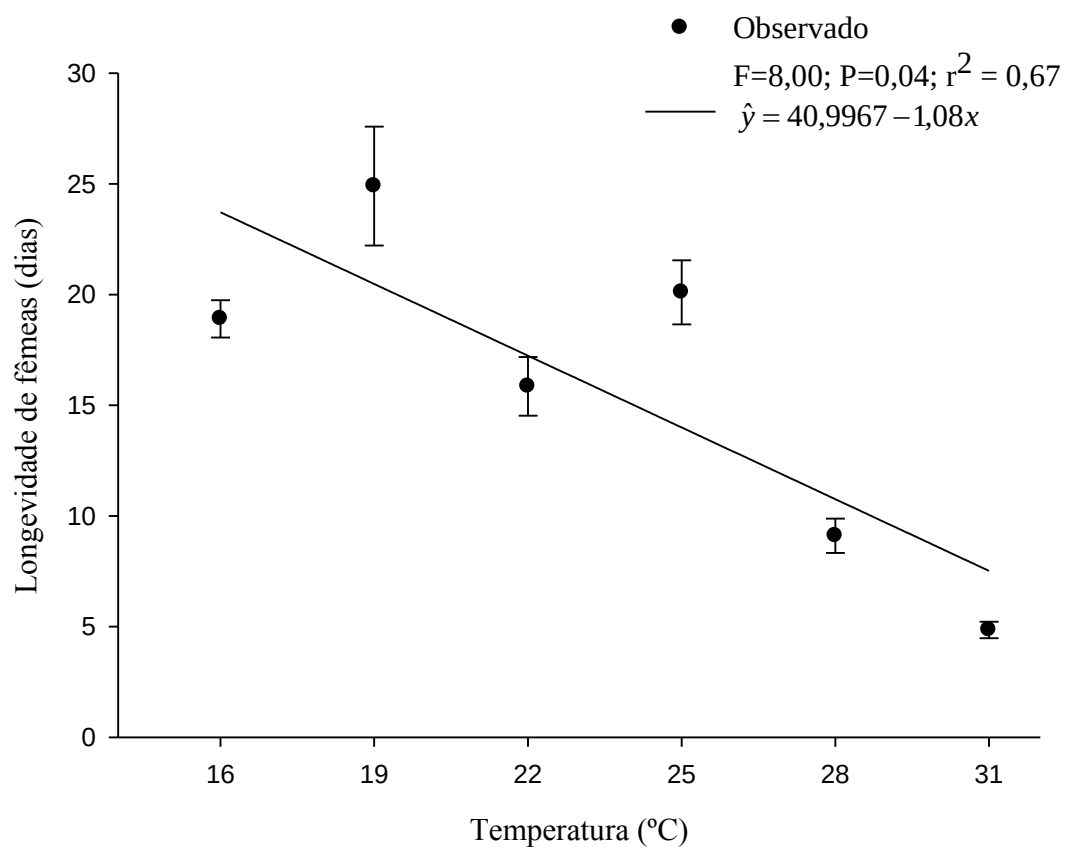


Fig. 2. Longevidade (dias) de fêmeas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) emergidas de pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em seis temperaturas constantes, U.R. de $26 \pm 1\%$ e fotofase de 12 h.

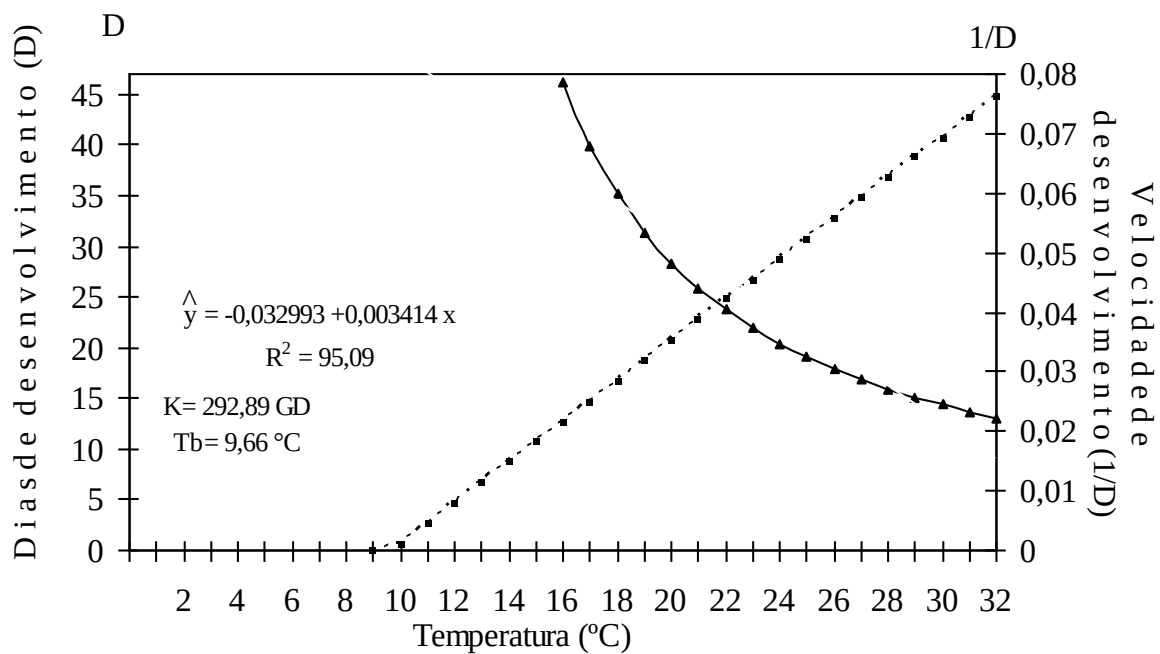


Fig. 3. Duração (dias) e velocidade de desenvolvimento de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) por pupa de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em seis temperaturas constantes, U.R. de $26 \pm 1\%$ e fotofase de 12 h.

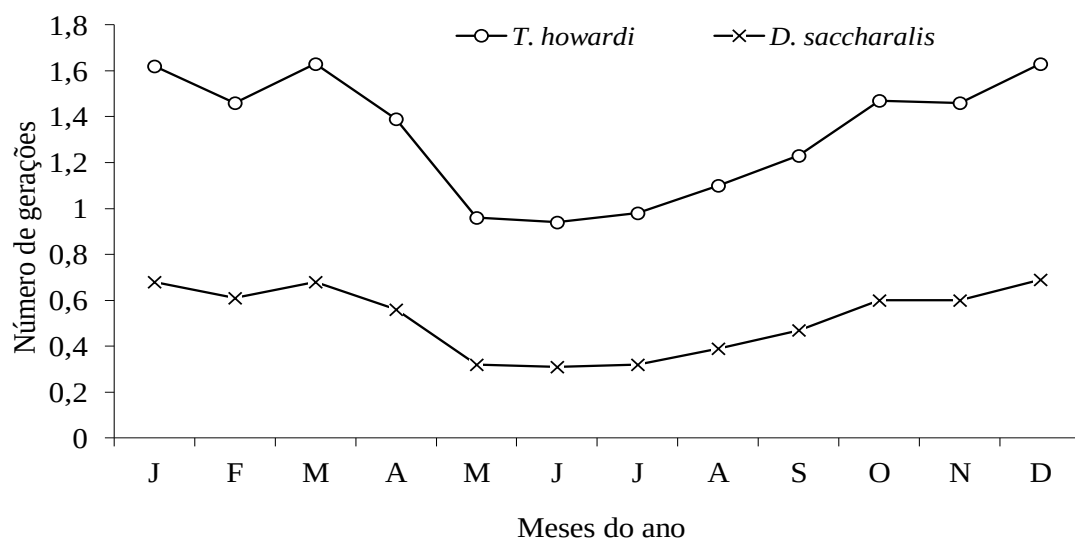


Fig. 4. Estimativa do número médio mensal de gerações de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) e de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) para o município de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

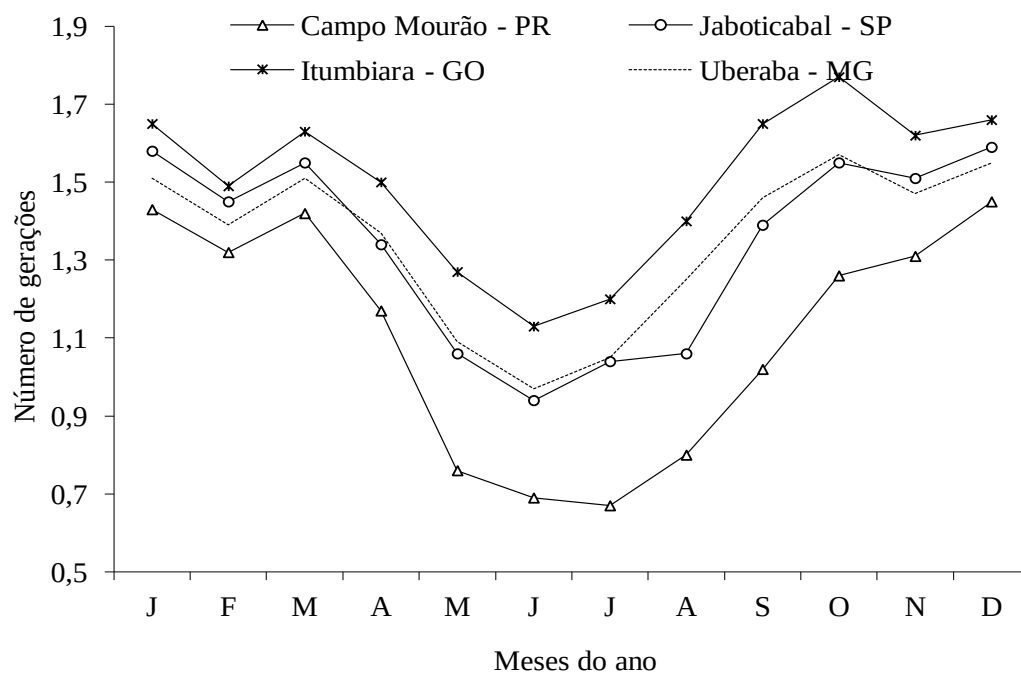


Fig. 5. Estimativa do número de gerações de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupa de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) nos diferentes meses do ano, para localidades produtoras de cana-de-açúcar no Brasil.

CAPÍTULO II

Aspectos biológicos e tabela de vida de fertilidade de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) sob diferentes temperaturas

**Aspectos biológicos e tabela de vida de fertilidade de *Tetrastichus howardi*
(Hymenoptera: Eulophidae) sob diferentes temperaturas**

Kellen FAVERO¹, Fabricio Fagundes PEREIRA¹, Jorge Braz TORRES², Harley
Nonato de OLIVEIRA³, Samir Oliveira KASSAB¹

¹Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, 79804-970, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil; e-mail: kellenfaver0@yahoo.com.br; fabriciofagundes@ufgd.edu.br; samirkassab@gmail.com

²Depto de Agronomia/Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900, Recife, Pernambuco, Brasil; e-mail: jtorres@depa.ufrpe.br

³Embrapa Agropecuária Oeste, Caixa Postal 449, CEP 79804-970 Dourados, MS, Brazil; e-mail: harley.oliveira@embrapa.br

Resumo: A temperatura é o principal fator abiótico que afeta a vida dos insetos. O desenvolvimento de *Tetrastichus howardi* (Olliff) foi estudado em seis temperaturas constantes (16, 19, 22, 25, 28 e 31°C) parasitando pupas da broca-da-cana *Diatraea saccharalis* (Fabricius), o principal lepidóptero praga da cana-de-açúcar no Brasil. O parasitoide completou desenvolvimento em todas as temperaturas avaliadas, porém com variação de resultados. A menor duração de desenvolvimento e maior sobrevivência foram obtidas a 31°C. Adultos emergidos nas condições estudadas iniciaram oviposição no dia de contato com o hospedeiro e foram mais produtivos a 25°C e viveram mais a 16°C. Os parâmetros estimados através da tabela de vida de fertilidade resultaram em maior taxa líquida de reprodução (R_0) a 25°C, enquanto a taxa intrínseca de crescimento populacional (r_m) foi superior e similar entre as temperaturas de 25, 28 e 31°C. A duração média de geração (T) de *T. howardi* foi maior a 16°C como um resultado do desenvolvimento mais lento e maior longevidade da fêmea nesta temperatura. Com base nos resultados, temperaturas entre 19 e 28°C permitiram maior desempenho do parasitoide como maior fecundidade e longevidade. Esses resultados são importantes para a multiplicação de *T. howardi* em condições de laboratório, bem como, para a compreensão do seu potencial desempenho biológico para a utilização no controle de *D. saccharalis*.

Palavras chave: controle biológico, criação massal, parasitismo, pragas da cana.

Abstract: The chief abiotic factor which affects the lives of insects is temperature. The development of *Tetrastichus howardi* (Olliff) was studied at six constant temperatures, viz., at 16, 19, 22, 25, 28 and 31°C, parasitizing the pupae of *Diatraea saccharalis* (Fabricius), the sugarcane borer, the main lepidopteran pest of cane sugar in Brazil. The parasitoid showed complete development at all the temperatures, however, recording some variations. At 31°C, development within the shortest duration and highest survival was observed. The adults that emerged under the conditions studied commenced oviposition on contact with the host, were most productive at 25°C, and lived longer to 16°C. The parameters estimated by the fertility life table revealed a higher net reproductive rate (R_0) at 25°C, while the intrinsic rate of increase (r_m) was similar between the higher and temperatures of 25, 28 and 31°C. Due to the slower development, as well as female longevity of *T. howardi* at 16°C, the average generation (T) was greater at this temperature. In line with these results, temperatures between 19 and 28°C allowed for a better performance and higher parasitoid fecundity and longevity. These results are of great significance for the multiplication of *T. howardi* under laboratory conditions, as well as to understand the performance potential for use as a measure of biological control of *D. saccharalis*.

Keywords: biological control, mass rearing, sugarcane pests, parasitism.

Introdução

A temperatura é um dos principais fatores abióticos responsáveis por limitar o crescimento, a sobrevivência e a reprodução dos insetos (Yu et al. 2013). Em parasitoides, ela pode afetar o desenvolvimento (Mawela et al. 2013), a longevidade (Rodrigues et al. 2013), a fecundidade (Golizadeh et al. 2009), a localização do hospedeiro (Hance et al. 2007) e a oviposição (Duale 2005), apresentando implicações diretas no crescimento populacional desses inimigos naturais e, conseqüentemente, no sucesso do controle biológico.

O conhecimento da influência da temperatura sobre o desenvolvimento e reprodução de insetos é importante na compreensão da dinâmica populacional de uma determinada população (Golizadeh et al. 2009), na avaliação da eficiência de um agente de controle biológico (Roy et al. 2002), na criação massal (Yu et al. 2013) e na utilização de inimigos naturais em programas de manejo integrado de pragas (Malekmohammadi et al. 2012). Dessa forma, diversos métodos têm sido utilizados para descrever a relação entre a

temperatura e o desenvolvimento de insetos (Yu et al. 2013). Estudos de tabela de vida são comumente utilizados por fornecer uma descrição completa dos parâmetros biológicos de uma população sob determinadas condições ambientais, tais como condições climáticas e de alimento (Golizadeh et al. 2009).

A taxa intrínseca de crescimento natural (r_m) é um dos principais resultados extraídos de estudos de tabelas de vida e indica o possível sucesso de um inimigo natural (Coats 1976). Um agente de controle biológico será considerado efetivo contra uma determinada praga se, pelo menos, as taxas intrínsecas de aumento (r_m) de ambos forem semelhantes (Hondo et al. 2006). Além disso, esses resultados podem ser utilizados com indicadores da temperatura, à qual o crescimento de uma população é mais favorável, por refletir os efeitos da temperatura no desenvolvimento, reprodução e sobrevivência de uma população (Castillo et al. 2006).

A broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) é considerada a principal praga da cultura da cana-de-açúcar e tem se tornado importante em regiões produtoras de milho e sorgo no Brasil (Cruz et al. 2011). As lagartas desenvolvem-se no interior dos colmos das plantas, dificultando a eficiência de controle com produtos químicos (Vacari et al. 2012). Dessa forma, o controle biológico tem sido enfatizado como uma alternativa promissora para o controle dessa praga (Rodrigues et al. 2013).

Dentre as estratégias de controle biológico que tem apresentado resultado eficiente para o controle de *D. saccharalis* destaca-se a utilização do parasitoide larval *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae). Um dos motivos desta eficiência é a capacidade de *C. flavipes* encontrar hospedeiros dentro do colmo das plantas de cana-de-açúcar, além da habilidade de se adaptar a diferentes regiões canavieiras (Vacari et al. 2012).

O parasitoide *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) tem sido registrado associado a um grande número de pragas de importantes culturas (Baitha et al. 2004, La Salle e Polaszek, 2007, Prasad et al. 2007, Silva-Torres et al. 2010). No Brasil, foi encontrado parasitando *D. saccharalis* em cana-de-açúcar (Vargas et al. 2011) e milho (Cruz et al. 2011). Características de *T. howardi* que indicam seu potencial de utilização no controle biológico dessa importante praga, são sua capacidade de parasitar e se desenvolver nos estágios de lagarta e pupa de *D. saccharalis* (Vargas et al. 2011), e de localizar o hospedeiro nas galerias produzidas pelas pragas nas plantas hospedeiras (Kfir et al. 1993). Desta maneira, *T. howardi* pode ser utilizado como mais uma opção para o controle

biólogo de *D. saccharalis* e poderá complementar o controle realizado com o parasitoide larval *C. flavipes*.

O sucesso na introdução ou no desenvolvimento de um programa de controle biológico com parasitoides depende do conhecimento das características biológicas em diferentes condições de temperatura (Rodrigues et al. 2013). Poucas são as informações a respeito do efeito da temperatura sobre esse parasitoide. Assim, este trabalho avaliou o desempenho biológico de *T. howardi*, criado em pupas de *D. saccharalis*, sob diferentes temperaturas constantes, com base nos estudos de tabela de vida de fertilidade.

Material e métodos

Local de condução dos experimentos

O experimento foi conduzido nos Laboratórios de Entomologia e de Controle Biológico da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) - Centro de Pesquisa Agropecuária do Oeste (CPAO), em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, com as seguintes etapas:

Multiplificação do hospedeiro *D. saccharalis*

Os ovos de *D. saccharalis* foram provenientes da criação estoque mantida no Laboratório de Entomologia da Embrapa Agropecuária Oeste (CPAO). Esses ovos foram mergulhados em solução de sulfato de cobre e água a 1%, para desinfecção, e colocados em placas de Petri (9 cm de diâmetro) forradas com papel filtro umedecido. As placas com os ovos foram mantidas em câmara climatizada a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotofase de 12 h até a eclosão das lagartas. As lagartas recém eclodidas foram transferidas para tubos de vidro (8,5 cm altura x 2,5 cm diâmetro) contendo dieta artificial (Adaptado de Parra 2007), na densidade de quatro lagartas por tubo, onde permaneceram até a formação de pupas. As pupas foram retiradas da dieta, sexadas e colocadas na densidade de 24 pupas (12 fêmeas e 12 machos) por gaiola de PVC (20 cm altura x 10 cm diâmetro). Na parte interna da gaiola foram colocadas folhas de papel jornal umedecidas, como substrato para oviposição. As gaiolas foram colocadas sobre placas de Petri (12 cm de diâmetro) forradas com papel-filtro. A abertura superior das gaiolas de PVC foi fechada com tecido do tipo “voil” preso com elástico. Os adultos emergidos foram alimentados com solução aquosa de mel a 10%, colocada em recipientes plásticos cilíndricos (4 cm altura x 5 cm diâmetro) e fornecida aos insetos, por capilaridade, por meio de um chumaço de algodão inserido nos recipientes (Adaptado de Parra 2007).

Multiplicação do parasitoide *T. howardi*

A criação de *T. howardi* foi iniciada com adultos provenientes da criação estoque do Laboratório de Entomologia/Controle Biológico (LECOBIOL) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, MS. A multiplicação da população de *T. howardi* foi feita com fêmeas de 24 h de idade, individualizadas e expostas a pupas de *D. saccharalis* de mesma idade, empregando tubos de vidro (8,5 cm altura x 2,5 cm de diâmetro) fechados com algodão hidrófilo. A alimentação das fêmeas do parasitoide foi feita com gotículas de mel puro dispersas no interior do tubo de vidro (Vargas et al. 2011). A criação foi conduzida em sala climatizada a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 h.

Desenvolvimento e reprodução de *T. howardi* em diferentes temperaturas

A fecundidade e longevidade de *T. howardi* foram determinadas em seis temperaturas constantes, as quais foram 16, 19, 22, 25, 28 e 31°C . Para cada temperatura, 30 fêmeas de *T. howardi* com 24 h de idade foram isoladas em tubos de vidro (8,5 cm altura x 2,5 cm diâmetro) e alimentadas conforme descrito anteriormente na manutenção da criação. Pupas de *D. saccharalis* de 24 h de idade foram ofertadas diariamente para cada fêmea do parasitoide. Esse procedimento foi repetido até a morte de cada fêmea. As pupas após submetidas ao parasitismo foram acondicionadas em tubos de vidro e mantidas em câmaras climatizadas reguladas nas temperaturas citadas até a emergência dos descendentes.

Para cada uma das temperaturas (tratamento) foram avaliados: a duração do ciclo (da exposição da pupa ao parasitismo até a emergência de adultos do parasitoide); a viabilidade do parasitismo (%); a razão sexual ($= \frac{\text{♀}}{\text{♀} + \text{♂}}$); o período de pré-oviposição e de oviposição; a fecundidade e a longevidade de fêmeas de *T. howardi*. A separação de machos e fêmeas dos parasitoides foi feita com base nas características morfológicas da antena (fêmeas possuem antenas com flagelo marrom escuro, enquanto que, os machos possuem antenas com flagelo de coloração clara, normalmente amarelado, com um segmento a mais de cor marrom escuro e/ou preto) (La Salle e Polaszek 2007). A mortalidade natural das pupas de *D. saccharalis* foi calculada nas mesmas condições ambientais do experimento e empregada para corrigir a mortalidade ocasionada pelo parasitoide (Abbott 1925). Para tanto, 20 pupas sem parasitismo foram individualizadas em tubos de vidro (8,5 cm altura x 2,5 cm diâmetro), e acondicionadas em cada temperatura. O número de adultos de *D. saccharalis* emergidos foi determinado.

Os resultados foram submetidos a análise de regressão considerando o período de oviposição, fecundidade e longevidade como variáveis dependente (y), em função das temperaturas como variáveis independentes (x). A equação selecionada para cada variável foi aquela que apresentou todos os parâmetros significativos ($P < 0,05$) e maior coeficiente de determinação (R), além de ser representativa dos resultados biológicos.

Determinação dos parâmetros da tabela de vida de fertilidade

Os dados de duração e viabilidade da fase imatura (parasitismo a emergência dos adultos), razão sexual da descendência e produção diária de descendentes provenientes da oferta diária de pupas ao parasitismo, em cada temperatura, foram empregados para calcular os parâmetros da tabela de vida de fertilidade segundo Birch (1948). Assim, os parâmetros tempo médio de uma geração (T, dias), taxa líquida de reprodução (R_0) e taxa intrínseca de crescimento populacional (r_m), em cada temperatura, foram calculados empregando o procedimento escrito por Maia et al. (2000) através do Proc Lifetest do SAS (SAS Institute 2002).

Resultados

Desenvolvimento e reprodução de *T. howardi* em diferentes temperaturas

O parasitoide *T. howardi* completou desenvolvimento em todas as temperaturas testadas. A duração do desenvolvimento (ovo-adulto) de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis* apresentou relação inversa com a elevação da temperatura. Os valores variaram de $15,0 \pm 0,09$ dias na maior temperatura estuda de 31°C a $53,2 \pm 0,88$ dias na menor temperatura de 16°C . A menor sobrevivência foi de 34% a 16°C , enquanto que a maior sobrevivência foi de 89% a 31°C . A razão sexual de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis* foi de $0,96 \pm 0,01$ (96% de fêmeas), não havendo diferença significativa ($P > 0,05$) entre as temperaturas.

Fêmeas de *T. howardi* apresentaram maior fecundidade (produção de descendentes) em pupas de *D. saccharalis* a 25°C ($165,4 \pm 4,77$) e menor a 31°C ($77,2 \pm 7,08$) ($F = 19,32$; $P = 0,01$; $r^2 = 0,96$; Fig.1). A longevidade das fêmeas de *T. howardi* decresceu com o aumento da temperatura ($F = 53,69$; $P = 0,001$; $r^2 = 0,96$; Fig.2). A máxima longevidade observada de *T. howardi* foi de 50 dias na temperatura de 16°C e a mínima de 1 dia a 31°C , enquanto que a 25°C , a máxima longevidade observada foi de 21 dias.

A oviposição das fêmeas de *T. howardi* foi iniciada no dia em que as mesmas entraram em contato com as pupas do hospedeiro (i.e., 24h de idade), sendo observado

maior produção de descendentes neste primeiro dia de parasitismo, em todas as temperaturas testadas. Cerca de 90% da produção de descendentes ocorre nos primeiros cinco dias de vida das fêmeas nas temperaturas de 25, 28 e 31°C e nos primeiros 10 dias nas temperaturas imediatamente inferiores (16, 19 e 22°C). Porém, o parasitismo pode ocorrer até 13 e 42 dias de idade do adulto nas temperaturas de 25 e 16°C, respectivamente. Este período de oviposição decresceu com o aumento da temperatura ($F= 406,74$; $P < 0,0001$; $R^2= 0,99$; Fig. 3).

Determinação dos parâmetros da tabela de vida de fertilidade

O tempo médio requerido para *T. howardi* completar uma geração, caracterizada pelo tempo médio de geração da tabela de vida de fertilidade (T) parasitando pupas de *D. saccharalis*, foi inversamente proporcional ao aumento da temperatura. Os valores variaram de 12,9 dias na maior temperatura estudada de 31°C a 47,4 dias na menor temperatura de 16°C (Tabela 1).

A produção de descendentes fêmeas, por fêmea de *T. howardi* caracterizada pela taxa líquida de reprodução (R_0), variou de 46,0 a 107,3 fêmeas para as temperaturas de 16 e 25°C, respectivamente. A menor taxa líquida de reprodução foi observada nas temperaturas extremas de 16 e 31°C, sem diferença entre elas ($P > 0,05$) (Tabela 1).

A taxa intrínseca de crescimento populacional (r_m) apresentou resultado correlacionado com o aumento da temperatura até 25°C (Tabela 1). A partir de 25°C, não houve diferença na r_m em função das demais temperaturas avaliadas ($P > 0,05$) (Tabela 1).

Discussão

O parasitoide *T. howardi* se desenvolve e reproduz quando parasitando pupas de *D. saccharalis* submetidas a diferentes regimes térmicos, indicando assim, o seu potencial de adaptação a variações no ambiente, quanto à temperatura. Fato de importância, visto que, a broca-da-cana ocorre naturalmente ao longo do ano em diferentes condições de temperatura, protegida no interior do colmo das plantas. Além disso, o desempenho reprodutivo de *T. howardi* a 25°C foi, em média, 165,4 descendentes em pupas de *D. saccharalis*, superior ao resultado obtido em pupas de *Helicoverpa (Heliothis) armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae), que foi de 101,4 descendentes (Kfir et al. 1993) e em pupas de *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) que foi de 92,9 descendentes (González 2004), criados em condições ambientais semelhantes. Essas variações ocorrem devido a diferenças na aceitabilidade dos parasitoides às espécies hospedeiras

(Malekmohammadi et al. 2012), à resposta imunológica (Andrade et al. 2010), à melhor adaptação do parasitoide ao hospedeiro, de acordo com sua qualidade nutricional (Altoé et al. 2012), e, principalmente, devido ao tamanho do hospedeiro (Pastori et al. 2012), embora sendo o tamanho das pupas de *D. saccharalis* e de *H. armigera* ou de *G. mellonella*, bastante próximos.

A fecundidade de fêmeas usualmente está relacionada à sua longevidade; em especial, para as espécies que distribuem a produção de descendentes ao longo do período reprodutivo. Embora fêmeas de *T. howardi* tenham apresentado maior longevidade nas menores temperaturas, as maiores produções de descendentes foram nas temperaturas intermediárias, fato este proveniente da concentração do parasitismo nos primeiros dias de vida, como observado para *T. howardi* neste estudo. Assim, em temperaturas mais elevadas ocorreu menor longevidade, bem como produção de descendentes. Além da temperatura, a presença do hospedeiro (Kfir et al. 1993), a atividade de acasalamento (Karindah et al. 2005) e a densidade de hospedeiros disponíveis (González 2004), também influenciam a longevidade desse parasitoide. Vale ressaltar que, mesmo em temperatura constante como a 28°C, *T. howardi* apresentou longevidade semelhante a apresentada a 25°C que compreende o período de maior parasitismo e produção de descendentes. Porém, em temperaturas constantes e elevadas como 31°C, a longevidade deste parasitoide é reduzida o que pode comprometer o seu desempenho a campo. Embora temperaturas iguais ou acima de 31°C possam ocorrer em dias de verão, elas acontecem por curto período de tempo, não atingindo médias diárias de tal magnitude. Por outro lado, a maior longevidade de *T. howardi* nas temperaturas menores, pode ser uma importante informação para a criação massal deste parasitoide. Temperaturas menores podem retardar o metabolismo de parasitoides e, portanto, mantê-los em desenvolvimento por um período mais longo, para uma posterior utilização na manutenção da população em laboratório ou em liberação a campo (Pomari et al. 2012).

A oviposição de *T. howardi* foi iniciada no dia em que as fêmeas entraram em contato com o hospedeiro e continuou por até 42 dias em pupas de *D. saccharalis*, em condições de baixa temperatura. Nas primeiras 24 h após a emergência, 35% das fêmeas de *T. howardi* ovipositaram em pupas de *H. armigera*. Após 48 h o parasitismo aumentou para 80% (Moore e Kfir 1995). Esses autores concluíram que *T. howardi* tem um período de pré-oviposição variando de 2 h até cinco dias. Resultados semelhantes foram encontrados por Karindah et al. (2005). Segundo este autor, as fêmeas iniciam a oviposição no dia da emergência e podem continuar ovipositando por até 19 dias em pupas de *Plutella xylostella*

(L.) (Lepidoptera: Plutellidae). O conhecimento da idade em que os parasitoides estão mais ativos e fecundos é importante na tomada de decisão sobre a idade ideal desses insetos ao serem liberados em campo, para obtenção de níveis significativos de parasitismo (Silva-Torres et al. 2009) e controle de qualidade dos parentais mantidos na criação massal, mantendo as fêmeas na criação até o pico de oviposição. Após este período, que é em torno de cinco dias para *T. howardi* a 25°C, as fêmeas podem ser substituídas por novas fêmeas, maximizando o sistema de produção.

No primeiro dia de oviposição foi observado o máximo de produção descendentes de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis*, para todas as temperaturas testadas. Resultados semelhantes foram encontrados por Cruz et al. (2011), em pupas do mesmo hospedeiro, para temperatura de 25°C. É possível evidenciar, ainda por meio dos resultados que, fêmeas de *T. howardi* produzem cerca de 90% do total dos seus descendentes até o 5º dia de vida nas temperaturas de 25, 28 e 31°C e até o 10º dia de vida nas temperaturas de 16, 19 e 22°C, corroborando com os resultados apresentados por outros autores. Em pupas de *H. armigera*, cerca de 97% da progênie de *T. howardi* é produzida nos primeiros 10 dias após a emergência (Kfir et al. 1993). Fêmeas de *T. howardi* são mais efetivas durante suas primeiras 72 h, em pupas de *G. mellonella*, pois parasitam entre 42 e 60% dos hospedeiros disponíveis (González 2004). Essa característica é importante em um programa de controle biológico, pois em condições de campo, parasitoides podem ser mais suscetíveis a fatores bióticos e abióticos, que podem prejudicar sua ação; assim, quanto mais rápido o parasitoide chegar a 80% do seu parasitismo total, maior a chance de ele ser bem sucedido (Bueno et al. 2012).

O período de oviposição de fêmeas de *T. howardi* decresceu com o aumento da temperatura. Fêmeas de parasitoides amadurecem seus ovos usando nutrientes adquiridos durante seu desenvolvimento larval (Kapranas e Luck 2008). Uma parte desses nutrientes é direcionada para maturação inicial dos ovos, enquanto o restante constitui suas reservas, que podem ser utilizadas para produção de ovos futuros (Jervis et al. 2008). A maturação desses ovos é dependente da temperatura e, portanto, é mais lenta em temperaturas inferiores, provavelmente devido ao menor metabolismo dos parasitoides nessas condições (Kapranas e Luck 2008). Entretanto, insetos criados em temperaturas mais baixas podem compensar o menor número de ovos depositados, ovipositando por um período mais longo de tempo (Legaspi e Legaspi Jr. 2005), conforme observado nos resultados deste trabalho.

A taxa líquida de reprodução (R_0), que corresponde à contribuição média de cada fêmea para a geração subsequente, expresso em número de descendentes fêmeas por fêmea,

foi maior na temperatura de 25°C, onde a cada geração a população de *T. howardi* pode aumentar em média aproximadamente 118 vezes. Os valores da taxa líquida de reprodução para as temperaturas de 31 e 16°C foram semelhantes. Relações adversas entre os extremos de temperatura e o desenvolvimento de espécies de Eulophidae têm sido relatados por outros autores (Ferreira et al. 2003, Duale 2005, Castillo et al. 2006, Pastori et al. 2012). Os extremos de temperatura, no momento da oviposição, podem ser um impedimento para a produção de parasitoides, devido ao menor número de ovos depositados por hospedeiro nessas condições (Duale 2005). Entretanto, a produção de parasitoides não depende somente da temperatura favorável durante a oviposição. A sobrevivência e o desenvolvimento dos estádios imaturos de parasitoides dependem de uma temperatura apropriada (Duale 2005). Com base nos resultados obtidos, a temperatura de 25°C é a recomendada para a multiplicação de *T. howardi*; as demais temperaturas podem ser utilizadas no caso de se desejar retardar ou acelerar o desenvolvimento, com exceção das temperaturas extremas estudadas de 16 e 31°C, nas quais *T. howardi* obteve baixa taxa líquida de reprodução.

A taxa intrínseca de crescimento populacional (r_m) permite a comparação do potencial de crescimento da espécie sob as diferentes condições estudadas, como no caso, criação em diferentes regimes de temperatura. A taxa intrínseca de crescimento (r_m) é obtida pela razão da taxa líquida de reprodução (R_0) e tempo médio de geração (T). Assim, ela deve ser interpretada considerando as duas variáveis simultaneamente, pois em situações onde o parasitoide apresenta curto tempo médio de geração, como nas temperaturas mais elevadas, pode resultar em valores superestimado para a r_m em relação a condições mais favoráveis para a reprodução, como acontece nas temperaturas intermediárias testadas (25°C). Isto é claramente demonstrado ao se comparar a r_m entre a condição de 25°C com 28 e 31°C, sendo iguais entre elas. Ao estimar o crescimento populacional com base na r_m e T obtidos, empregando o modelo de crescimento geométrico para condições controladas, e sem limitação de hospedeiros e espaço, $N_t = N_0 \cdot \exp^{r_m \cdot T}$, em uma geração, uma fêmea de *T. howardi* produzirá 165,36; 129,36 e 77,17 descendentes nas condições de 25, 28 e 31°C, o que reforça a condição de 25°C como a mais favorável ao desempenho de *T. howardi* parasitando pupas de *D. saccharalis*.

A duração média das gerações (T) de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis* foi inversamente proporcional à variação da temperatura. Esse padrão é semelhante para *T. howardi* parasitando pupas de *H. armigera* (Kfir et al. 1993) e *G. mellonella* (González 2004). O tempo de geração foi menor a 31°C, bem como, a longevidade e a produção de

descendentes. Temperaturas elevadas afetam a eficiência de forrageamento de parasitoides, que associado a um menor tempo de vida dos mesmos resultam em uma diminuição do sucesso reprodutivo (Denis et al. 2011). Além disso, temperaturas mais elevadas aumentam a probabilidade de um hospedeiro se defender de parasitoides imaturos, devido a uma maior eficiência do sistema imunológico do hospedeiro ou a uma menor eficácia do polydnavirus injetado pela fêmea parasitoide durante a oviposição, resultando em decréscimo do sucesso do parasitismo (Hance et al. 2007).

Os resultados de tabela de vida de fertilidade, em conjunto com os dados biológicos de *T. howardi*, permitem concluir que este parasitoide é um promissor agente de controle biológico, por ser capaz de se reproduzir e desenvolver em diferentes regimes térmicos. Sob todas as temperaturas estudadas de 16 a 31°C, o parasitoide foi capaz de aumentar em número. Apesar de uma melhor faixa de temperatura para a criação de *T. howardi* (25°C), é importante ressaltar que, nas demais temperaturas, *T. howardi* se reproduz e se desenvolve satisfatoriamente. Isto permite supor que *T. howardi* tem uma elevada plasticidade térmica, podendo ser utilizado em regiões com climas diferentes, o que aumenta a probabilidade de êxito na sua utilização. Além disso, o presente estudo fornece informações importantes para a multiplicação de *T. howardi* em condições de laboratório e permite inclusive estimar a quantidade de parasitoides a serem produzidos a uma dada temperatura constante de criação.

Conclusão

T. howardi se desenvolve satisfatoriamente em pupas de *D. saccharalis* em todas as temperaturas avaliadas de 16 a 31°C, porém com maior desempenho biológico nas temperaturas entre 19 e 28°C.

Referências

- ABBOTT, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265–267.
- 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. 2012. *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitism of *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs under different temperatures. Ann. Entomol. Soc. Am. 105: 82–89.
- ANDRADE, G.S., SERRÃO, J.E., ZANUNCIO, J.C., ZANUNCIO, T.V., LEITE, G.L. D., POLANCZYK, R.A. 2010. Immunity of an alternative host can be overcome by higher densities of its parasitoids *Palmistichus elaeisis* and *Trichospilus diatraeae*. Plos One 05: e13231.
- BAITHA, A., JALALI, S.K., RABINDRA, R.J., VENKATESAN, T., RAO, N.S. 2004. Parasitizing efficiency of the pupal parasitoid, *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) on *Chilo partellus* (Swinhoe) at different exposure periods. J. Biol. Control 18: 65–68.
- BIRCH, L.C. 1948. The intrinsic rate of natural increase of an insect population. J. Anim. Ecol. 17: 15–26.
- BUENO, R.C.O.F., PARRA, J.R.P., BUENO, A.F. 2012. *Trichogramma pretiosum* parasitism of *Pseudoplusia includens* and *Anticarsia gemmatilis* eggs at different temperatures. Biol. Control 60: 154–162.
- CASTILLO, J., JACAS, J.A., PENÃ, J.E., ULMER, B.J., HALL, D.G. 2006. Effect of temperature on life history of *Quadrastichus haitiensis* (Hymenoptera: Eulophidae), an endoparasitoid of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae). Biol. Control 36: 189–196.
- COATS, S.A. 1976. Life cycle and behavior of *Muscidifurax zaraptor* (Hymenoptera: Pteromalidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 69: 772–780.

- CRUZ, I., REDOAN, A.C., SILVA, R.B., FIGUEIREDO, M.L.C., PENTEADO-DIAS, A.M. 2011. New record of *Tetrastichus howardi* (Olliff) as a parasitoid of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) on maize. *Sci. Agric.* 68: 252–254.
- DENIS, D., PIERRE, J.-S., VAN BAAREN, J., VAN ALPHEN, J.J.M. 2011. How temperature and habitat quality affect parasitoid lifetime reproductive success—A simulation study. *Ecol. Model.* 222: 1604–1613.
- DUALE, A. H. 2005. Effect of Temperature and relative humidity on the biology of the stem borer parasitoid *Pediobius furrus* (Gahan) (Hymenoptera: Eulophidae) for the management of stem borers. *Environ. Entomol.* 34: 1–5.
- FERREIRA, S.W.J., BARROS, R., TORRES, J.B. 2003. Exigências térmicas e estimativa do número de gerações de *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Eulophidae), para regiões produtoras de crucíferas em Pernambuco. *Neotrop. Entomol.* 32: 407–411.
- GOLIZADEH, A., KAMALI, K., FATHIPOUR, Y., ABBASIPOUR, H. 2009. Effect of temperature on life table parameters of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) on two brassicaceous host plants. *J. Asia-Pacific Entomol.* 12: 207–212.
- GONZÁLEZ, J.F.A. 2004. Estudios Bioecológicos, Reproducción Artificial y Liberación de *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae), Parasitoide Pupal de *Diatraea saccharalis* (Fab.) en Cuba. Tese (Doutorado em Ciências Agrícolas). Universidad Central de Las Villas. Santa Clara, Cuba, 179 pp.
- HANCE, T., VAN BAAREN, J., VERNON, P., BOIVIN, G. 2007. Impact of extreme temperatures on parasitoids in a climate change perspective. *Annu. Rev. Entomol.* 52: 107–26
- HONDO, T., KOIKE, A., SUGIMOTO, T. 2006. Comparison of thermal tolerance of seven native species of parasitoids (Hymenoptera: Eulophidae) as biological control agents against *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) in Japan. *Appl. Entomol. Zool.* 41: 73–82.

- JERVIS, M.A., ELLERS, J., HARVEY, J.A. 2008. Resource acquisition, allocation and utilization in parasitoid reproductive strategies. *Annu. Rev. Entomol.* 53: 361–385.
- KAPRANAS, A., LUCK, R.F. 2008. Egg maturation, host feeding, and longevity in two *Metaphycus* parasitoids of soft scale insects. *Biol. Control* 47: 147–153
- KARINDAH, S., SISWANTO, S.E., SULISTYOWATI, D.L. 2005. Parasitoid larva-pupa *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera:Eulophidae) pada *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera:Yponomeutidae) di pertanaman kubis kecamatan batu dan poncokusumo, kabupaten malang. *J. Entomol. Indonesia* 1: 61–68.
- KFIR, R., GOUWS, S., MOORE, S.D. 1993. Biology of *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae): A facultative hyperparasitoid of stem borers. *Biocontrol Sci. Technol.* 3: 149–159.
- LA SALLE, J., POLASZEK, A. 2007. Afrotropical species of the *Tetrastichus howardi* species group (Hymenoptera: Eulophidae). *Afr. Entomol* 15: 45–56.
- LEGASPI, J.C., LEGASPI JR, B.C. 2005. Life table analysis for *Podisus maculiventris* immatures and female adults under four constant temperatures. *Environ. Entomol.* 34: 990–998.
- MAIA, A.H.N., LUIZ, A.J.B., CAMPANHOLA, C. 2000. Statistical inference on associated fertility table parameters using Jackknife technique: computational aspects. *J. Econ. Entomol.* 93: 511–518.
- MALEKMOHAMMADI, A., SHISHEHBOR, P., KOCHAILI, F. 2012. Influence of constant temperatures on development, reproduction and life table parameters of *Encarsia inaron* (Hymenoptera: Aphelinidae) parasitizing *Neomaskellia andropogonis* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Crop Prot.* 34: 1–5.
- MAWELA, K.V., KFIR, R., KRÜGER, K. 2013. Effect of temperature and host species on parasitism, development time and sex ratio of the egg parasitoid *Trichogrammatoidea lutea* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Biol. Control* 64: 211–216.
- MOORE, S.D., KFIR, R. 1995. Host preference of the facultative hyperparasitoid *Tetrastichus howardi* (Hym.: Eulophidae). *Entomophaga* 40: 69–76.

- PARRA, J.R.P. 2007. Técnicas de Criação de Insetos para Programa de Controle Biológico. 6ª ed. Piracicaba: ESALQ/FEALQ. Brasil, 134 pp.
- PASTORI, P.L., ZANUNIO, J.C., PEREIRA, F.F., PRATISSOLI, D., CECON, P.R. SERRÃO, J.E. 2012. Desenvolvimento e exigências térmicas de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) criado em pupas de *Anticarsia gemmatilis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). R. Bras. Bioc. 10: 79–85.
- POMARI, A.F., BUENO, A.F., BUENO, R.C.O.F., MENEZES JUNIOR, A.O. 2012. Biological characteristics and thermal requirements of the biological control agent *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) reared on eggs of different species of the genus *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 105: 73–81.
- PRASAD, K.S., ARUNA, A.S., KUMAR, V., KARIAPPA, B.K. 2007. Feasibility of mass production of *Tetrastichus howardi* (Olliff), a parasitoid of leaf roller (*Diaphania pulverulentalis*), on *Musca domestica* (L.). Indian J. Seric. 46: 89–91.
- RODRIGUES, A.M.T., PEREIRA, F.F., KASSAB, S.O., PASTORI, P.L., GLAESER D.F., OLIVEIRA, H.N., ZANUNCIO, J.C. 2013. Thermal requirements and generation estimates of *Thichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) in sugarcane producing regions of Brazil. Fla. Entomol. 96: 154–159.
- ROY, M., BRODEUR, J., CLOUTIER, C. 2002. Relationship between temperature and developmental rate of *Stethorus punctillum* (Coleoptera: Coccinellidae) and its prey *Tetranychus mcdanieli* (Acarina: Tetranychidae). Environ. Entomol. 31: 177–187.
- SAS INSTITUTE 2002. User's guide: statistics, version 9.1. Cary. SAS Institute.
- SILVA-TORRES, C.S.A., BARROS, R., TORRES, J.B. 2009. Efeito da idade, fotoperíodo e disponibilidade de hospedeiro no comportamento de parasitismo de *Oomyzus sokolowskii* Kurdjumov (Hymenoptera: Eulophidae). Neotrop. Entomol. 38: 512–519.
- SILVA-TORRES, C.S.A., PONTES, I.V.A.F., TORRES, J.B., BARROS R. 2010. New records of natural enemies of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) in Pernambuco, Brazil. Neotrop. Entomol. 39: 835–838.

- VACARI, A.M., GENOVEZ, G.S., LAURENTIS, V.L., DE BORTOLI, S.A. 2012. Fonte proteica na criação de *Diatraea saccharalis* e seu reflexo na produção e no controle de qualidade de *Cotesia flavipes*. *Bragantia* 71: 355–361.
- VARGAS, E.L., PEREIRA, F.F., TAVARES, M.T., PASTORI, P.L. 2011. Record of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Diatraea* sp. (Lepidoptera: Crambidae) in sugarcane crop in Brazil. *Entomotropica* 26: 143–146.
- YU, J.-Z., CHI, H., CHEN, B.-H. 2013. Comparison of the life tables and predation rates of *Harmonia dimidiata* (F.) (Coleoptera: Coccinellidae) fed on *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) at different temperatures. *Biol. Control* 64: 1–9.

Tabela 1. Parâmetros da tabela de vida de fertilidade de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) taxa líquida de reprodução (R_0), taxa intrínseca de crescimento populacional (r_m) e tempo de geração (T) parasitando pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em diferentes temperaturas constantes e fotofase de 12 h.

Temperatura (°C) ¹	R_0 (♀/♀)	r_m (♀/♀*dia)	T (dias)
16	46,0 ± 2,24 e	0,08 ± 0,00 d	47,4 ± 0,37 a
19	107,2 ± 4,18 b	0,15 ± 0,00 c	30,4 ± 0,17 b
22	86,7 ± 2,72 c	0,21 ± 0,00 b	20,5 ± 0,11 c
25	118,7 ± 3,09 a	0,30 ± 0,00 a	15,6 ± 0,05 d
28	77,0 ± 3,87 d	0,31 ± 0,00 a	13,7 ± 0,06 e
31	57,5 ± 6,44 e	0,31 ± 0,00 a	12,9 ± 0,05 f

¹Médias (± 95% de intervalo de confiança) seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste ‘t’ ao nível de 5% de probabilidade com erros estimado pelo método Jackknife.

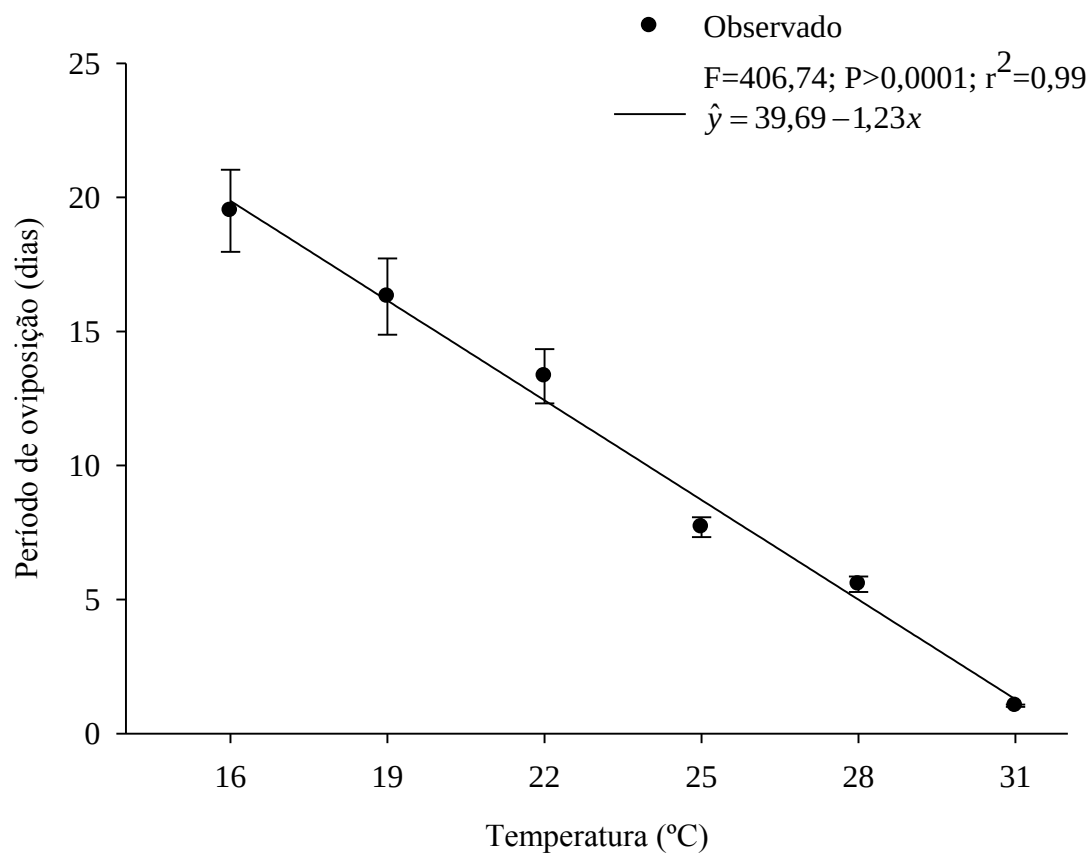


Fig. 1. Período de oviposição (dias) de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em seis temperaturas constantes e fotofase de 12 h.

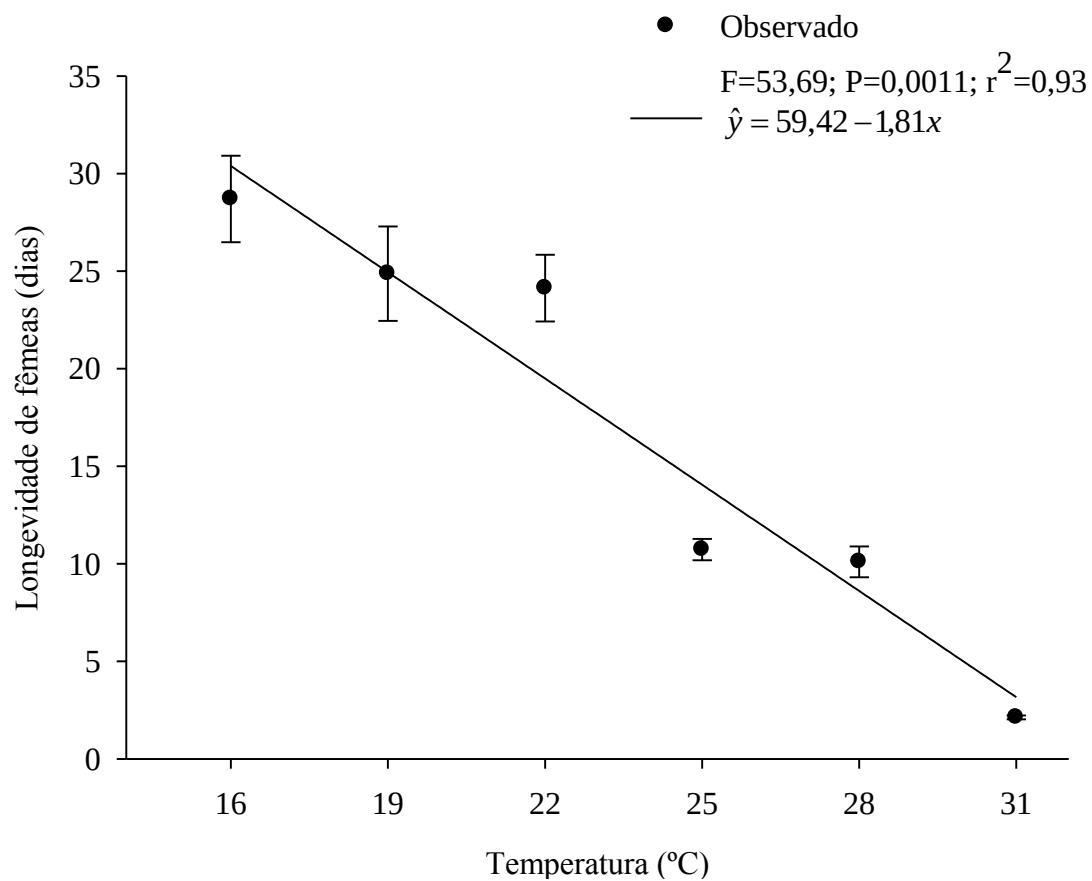


Fig. 2. Longevidade (dias) de fêmeas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em seis temperaturas constantes e fotofase de 12 h.

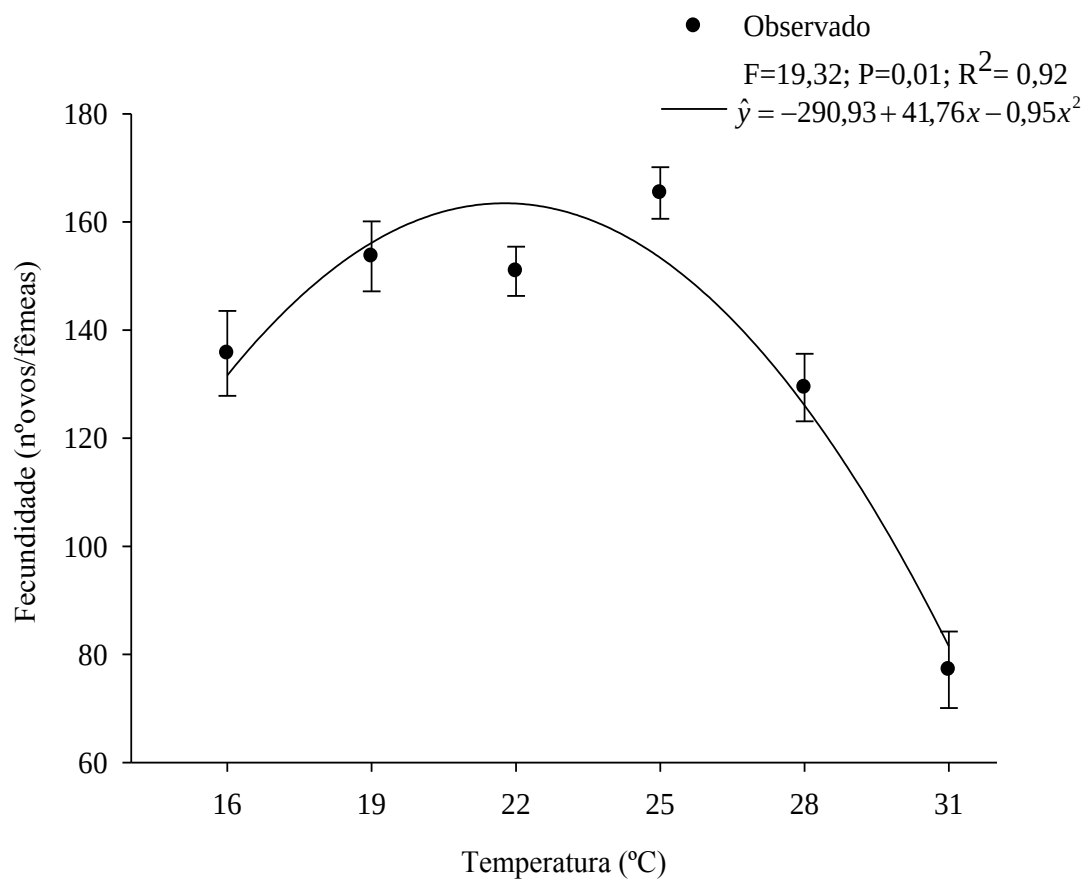


Fig. 3. Fecundidade (número de ovos/dias) de fêmeas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em seis temperaturas constantes e fotofase de 12 h.

CAPÍTULO III

**Qualidade biológica de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae)
após o armazenamento a frio**

Qualidade biológica de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) após o armazenamento a frio

Kellen FAVERO¹, Fabricio Fagundes PEREIRA¹, Harley Nonato de OLIVEIRA²,
Samir Oliveira KASSAB¹

¹Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, 79804-970, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil; e-mail: kellenfaver@gmail.com.br; fabriciofagundes@ufgd.edu.br; samirkassab@gmail.com

²Embrapa Agropecuária Oeste, Caixa Postal 449, CEP 79804-970 Dourados, MS, Brazil; e-mail: harley.oliveira@embrapa.br

Resumo: O armazenamento a frio de insetos é uma técnica muito utilizada em programas de controle biológico. Entretanto, é essencial entender os efeitos do estresse induzido pelo frio antes de armazenar parasitoides e seus hospedeiros a baixas temperaturas. Os efeitos do armazenamento sobre a qualidade biológica de *Tetrastichus howardi* (Olliff) foram avaliados a 10°C sobre diferentes períodos de exposição (cinco, dez, 15, 20 e 25 dias) através de três experimentos. No primeiro experimento, avaliou-se o desenvolvimento de *T. howardi* em pupas refrigeradas de seu hospedeiro *Diatraea saccharalis* (Fabricius). No segundo, examinou-se o efeito do armazenamento a frio sobre os imaturos de *T. howardi*. E por último, avaliou-se a progênie descendente dos parasitoides armazenados. Pupas de *D. saccharalis* podem ser armazenadas a 10°C por até 25 dias sem perda dos parâmetros reprodutivos e de desenvolvimento de *T. howardi*. A qualidade biológica das gerações parentais e F1 de *T. howardi* foi positivamente correlacionada com o período de exposição ao frio quando os parasitoides estavam na fase imatura. *T. howardi* pode ser armazenado a 10°C por até dez dias sem grandes perdas de seus aspectos biológicos. Os resultados aqui apresentados auxiliarão no planejamento da produção em larga escala e transporte de *T. howardi* do laboratório para o local de liberação.

Palavras-chave: armazenamento, baixa temperatura, criação massal, parasitoide.

Abstract: Maintaining insects under cold storage is a popular technique used widely in biological control programs. However, the effects of induced hypothermia need to be well

understand before storing the parasitoids and their hosts at low temperatures. The storage effects on the biological quality of *Tetrastichus howardi* (Olliff) were evaluated at 10°C for different lengths of exposure (at 5, 10, 15, 20 and 25 days) over three experiments. The first experiment evaluated the development of the *T. howardi* pupae chilled from their host *Diatraea saccharalis* (Fabricius). Next, the effect of cold storage was determined on the immature *T. howardi*. Finally, the progeny descendants of the parasitoids under cold storage were evaluated. The *D. saccharalis* pupae could be stored at 10°C for up to 25 days, without any loss of the reproductive and developmental parameters of *T. howardi*. The parental and F1 quality of the *T. howardi* positively correlated with the length of the cold exposure when the parasitoids were in the immature stage. It was thus found that *T. howardi* can be stored at 10°C for up to ten days without significant loss of its biological characteristics. These results will be beneficial in planning mass rearing and transportation of the *T. howardi* from the laboratory to the site of release.

Keywords: storage, mass rearing, parasitoid, low temperature.

Introdução

A produção em massa de insetos benéficos (predadores e parasitoides) é necessária em programas de controle biológico (Bourdais et al. 2006). Um dos principais obstáculos para o sucesso da implementação de programas eficientes é a dificuldade e o custo da criação desses insetos benéficos em grandes quantidades para a liberações inundativas no momento apropriado (Colinet e Boivin 2011). A maioria dos insetos utilizados em programas de controle biológico tem curto tempo de vida, por isso eles devem ser produzidos pouco antes de serem utilizados e enviados para os locais de liberação tão logo seja possível (van Lenteren 2000). Dessa forma, o desenvolvimento de métodos de armazenamento eficientes possibilitam o aumento da disponibilidade de parasitoides, e a redução do custo de programas de controle biológico (Chen et al. 2008a).

O armazenamento a baixas temperaturas é considerado um método valioso para prolongar o tempo de desenvolvimento de parasitoides (Bourdais et al. 2012). Além de permitir uma oferta constante e em número suficiente de agentes de biocontrole para programas de controle biológico (Chen et al. 2011), que poderão servir como suprimentos de reserva para compensar períodos de baixa produção ou períodos inesperados de alta demanda por esses agentes (van Lenteren 2000). No entanto, redução na aptidão de indivíduos sobreviventes pode ser observada imediatamente após a armazenagem, ou mais

tarde, no desenvolvimento das próximas gerações (Chen et al. 2008ab). Portanto, é essencial entender os efeitos do estresse induzido pelo frio antes de armazenar parasitoides a baixa temperatura para utilização em programas de controle biológico (van Baaren et al. 2005).

O endoparasitoide *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) é considerado um inimigo natural promissor para o controle biológico de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae), o principal lepidóptero praga da cana-de-açúcar no Brasil (Cruz et al. 2011, Vargas et al. 2011). No entanto, na falta de dietas artificiais adequadas para parasitoides, a multiplicação de *T. howardi* é dependente da disponibilidade de pupas do hospedeiro. A possibilidade de conservação de hospedeiros em baixa temperatura, sem perda da capacidade reprodutiva dos parasitoides, é importante quando for necessário aumentar a produção desses agentes de controle biológico (Pereira et al. 2009). Além disso, as pupas já parasitadas por *T. howardi* podem ser descartadas quando a demanda por parasitoides é baixa. Não há informações sobre o armazenamento de *T. howardi* ou outras espécies deste gênero. Portanto, encontrar métodos eficazes de armazenamento desse parasitoide, bem como do seu hospedeiro é importante para melhorar a implementação de *T. howardi* como um agente de controle biológico de *D. saccharalis*.

O objetivo deste trabalho foi determinar o efeito do armazenamento a frio sobre a qualidade biológica do parasitoide *T. howardi*. Para isso foram realizados três experimentos. No primeiro experimento avaliou-se o desenvolvimento de *T. howardi* em pupas refrigeradas de *D. saccharalis*. No segundo, examinou-se o efeito do armazenamento a frio sobre os imaturos de *T. howardi*. E por último, avaliou-se a progênie descendente dos parasitoides armazenados, para verificar se os efeitos deletérios causados pelo armazenamento a frio podem ser passados para a próxima geração.

Material e métodos

Local de condução dos experimentos

O experimento foi conduzido nos Laboratórios de Entomologia e de Controle Biológico da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) - Centro de Pesquisa Agropecuária do Oeste (CPAO), em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, com as seguintes etapas:

Multiplicação do hospedeiro *D. saccharalis*

Os ovos de *D. saccharalis* foram provenientes da criação estoque mantida no Laboratório de Entomologia da Embrapa Agropecuária Oeste (CPAO). Esses ovos foram mergulhados em solução de sulfato de cobre e água a 1%, para desinfecção, e colocados em placas de Petri (9 cm de diâmetro) forradas com papel filtro umedecido. As placas com os ovos foram mantidas em câmara climatizada a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotofase de 12 h até a eclosão das lagartas. As lagartas recém eclodidas foram transferidas para tubos de vidro (8,5 cm altura x 2,5 cm diâmetro) contendo dieta artificial (Adaptado de Parra 2007), na densidade de quatro lagartas por tubo, onde permaneceram até a formação de pupas. As pupas foram retiradas da dieta, sexadas e colocadas na densidade de 24 pupas (12 fêmeas e 12 machos) por gaiola de PVC (20 cm altura x 10 cm diâmetro). Na parte interna da gaiola foram colocadas folhas de papel jornal umedecidas, como substrato para oviposição. As gaiolas foram colocadas sobre placas de Petri (12 cm de diâmetro) forradas com papel-filtro. A abertura superior das gaiolas de PVC foi fechada com tecido do tipo “voil” preso com elástico. Os adultos emergidos foram alimentados com solução aquosa de mel a 10%, colocada em recipientes plásticos cilíndricos (4 cm altura x 5 cm diâmetro) e fornecida aos insetos, por capilaridade, por meio de um chumaço de algodão inserido nos recipientes (Adaptado de Parra 2007).

Multiplicação do parasitoide *T. howardi*

A criação de *T. howardi* foi iniciada com adultos provenientes da criação estoque do Laboratório de Entomologia/Controle Biológico (LECOBIOL) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, MS. A multiplicação da população de *T. howardi* foi feita com fêmeas de 24 h de idade, individualizadas e expostas a pupas de *D. saccharalis* de mesma idade, empregando tubos de vidro (8,5 cm altura x 2,5 cm de diâmetro) fechados com algodão hidrófilo. A alimentação das fêmeas do parasitoide foi feita com gotículas de mel puro dispersas no interior do tubo de vidro (Vargas et al. 2011). A criação foi conduzida em sala climatizada a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 h.

Experimento 1. Desenvolvimento de *T. howardi* em pupas refrigeradas de *D. saccharalis*

Pupas de *D. saccharalis*, com 24 h de idade, foram armazenadas a 10°C (Mélo e Parra 1988) por cinco, dez, 15, 20 e 25. Após o período de armazenamento, cada pupa foi

pesada (0,230 a 0,260g), e individualizada com uma fêmea de *T. howardi* de mesma idade em tubos de vidro (8,5 cm altura x 2,5 cm diâmetro) por um período de 24 h a 25°C e 12 h de fotofase. Ao final do período de exposição ao parasitismo, as fêmeas de *T. howardi* foram retiradas dos tubos e as pupas mantidas a 25°C até a emergência dos descendentes de *T. howardi* para avaliação das características biológicas.

Experimento 2. Armazenamento de *T. howardi* a 10°C no estágio de pupa

Pupas de *D. saccharalis*, com 24 h de idade foram pesadas (0,230 a 0,260g) e individualizadas em tubos de vidro (8,5 cm altura x 2,5 cm diâmetro), com uma fêmea de *T. howardi* de mesma idade, por um período de 24 h em câmara climatizada, regulada a 25°C e fotofase de 12 h. Ao final do período de parasitismo, as fêmeas foram retiradas dos tubos e as pupas parasitadas foram mantidas a 25°C, até que os parasitoides atingissem a fase de pupa, quando foram armazenados a 10°C ($T_b = 9,6^\circ\text{C}$) por cinco, dez, 15, 20 e 25 dias. Para verificar se os parasitoides estavam na fase de pupa, dez pupas de *D. saccharalis* parasitadas além do número de repetições foram separadas por tratamento, abertas com auxílio de estilete e comparadas ao relatado por González (2004). Após o período de armazenamento em baixa temperatura, as pupas de *D. saccharalis* foram novamente transferidas para câmara climatizada, regulada a 25°C e fotofase de 12 h para que os parasitoides completassem seu desenvolvimento.

Experimento 3. Parasitismo e desenvolvimento de *T. howardi* após armazenamento

Fêmeas de *T. howardi* com 24 h de idade emergidas após o armazenamento a 10°C por cinco, dez, 15, 20 e 25 dias foram expostas individualmente a pupas de *D. saccharalis* de mesma idade em tubos de vidro (8,5 cm altura x 2,5 cm diâmetro) por um período de 24 h a 25°C e 12 h de fotofase. Ao final do período de exposição ao parasitismo, as fêmeas de *T. howardi* foram retiradas dos tubos e as pupas parasitadas mantidas a 25°C, até a emergência dos descendentes de *T. howardi*, para verificar se os efeitos deletérios causados pelo armazenamento a frio dos parasitoides enquanto imaturos podem ser passados para a próxima geração.

Características biológicas avaliadas

Para cada experimento, foram avaliados a porcentagem de parasitismo [(número de pupas que não emergiram adultos de *D. saccharalis*) / (número de pupas) x 100]; porcentagem de emergência [(número de pupas de *D. saccharalis* com emergência de

adultos do parasitoide) / (número de pupas parasitadas) x 100]; duração do ciclo de vida (da exposição da pupa ao parasitismo até a emergência de adultos do parasitoide); o número de parasitoides emergidos por pupa (progênie); a razão sexual ($= \frac{\text{fêmeas}}{\text{fêmeas} + \text{machos}}$); e a longevidade de fêmeas e machos (período da emergência até a morte dos adultos). A separação de machos e fêmeas dos parasitoides foi feita com base nas características morfológicas da antena (fêmeas possuem antenas com flagelo marrom escuro, enquanto que, os machos possuem antenas com flagelo de coloração clara, normalmente amarelado, com um segmento a mais de cor marrom escuro e/ou preto) (La Salle e Polaszek 2007). A mortalidade natural das pupas de *D. saccharalis* foi calculada nas mesmas condições ambientais do experimento e empregada para corrigir a mortalidade ocasionada pelo parasitoide (Abbott 1925). Para tanto, 20 pupas sem parasitismo foram individualizadas em tubos de vidro (8,5 cm altura x 2,5 cm diâmetro), e submetidas as mesmas condições ambientais dos experimentos. O número de adultos de *D. saccharalis* emergidos foram determinados. Para determinação da longevidade de adultos de *T. howardi*, 20 fêmeas e 20 machos foram escolhidos ao acaso nos descendentes de cada tratamento e individualizados em tubos de vidro (8,5 cm altura x 2,5 cm diâmetro), e alimentados com gotículas de mel puro dispersas no interior do tubo de vidro.

Análise estatística

Os experimentos foram conduzidas em delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos (cinco períodos de armazenamento mais testemunha, que correspondeu a pupas não armazenadas com 24 h de idade) com dez repetições, sendo cada repetição, representada por um grupo de cinco pupas de *D. saccharalis* individualizadas, totalizando 50 pupas por tratamento. Os dados de parasitismo, emergência, duração do ciclo de vida, número de parasitoides emergidos por pupa de *D. saccharalis* (progênie), razão sexual e longevidade de fêmeas e machos de *T. howardi* foram submetidos à análise de variância e, quando significativo a 5% de probabilidade foi realizada a análise de regressão. A equação que melhor se ajustou aos dados foi escolhida com base no coeficiente de determinação (R^2), na significância dos coeficientes de regressão (β_i) e na análise de variância de regressão pelo teste F (ao nível de 5% de probabilidade).

Resultados

Desenvolvimento de *T. howardi* em pupas refrigeradas de *D. saccharalis*

O armazenamento de pupas de *D. saccharalis* a 10°C não afetou o parasitismo e emergência de *T. howardi* ($P > 0,05$), e os valores encontrados foram superiores a 90% para todos os tratamentos. A duração do ciclo de vida e a razão sexual de *T. howardi* criados em pupas de *D. saccharalis* submetidas a todos os períodos de armazenamento a 10°C não diferiram dos valores encontrados para o desenvolvimento desse parasitoide em pupas não refrigeradas do hospedeiro.

O número de descendentes produzidos por pupa de *D. saccharalis* ($F= 29,25$; $P= 0,005$; $r^2= 0,88$) e a longevidade de fêmeas ($F= 16,17$; $P= 0,02$; $R^2= 0,92$) e machos ($F= 154,74$; $P= 0,0009$; $R^2= 0,99$) de *T. howardi* apresentaram relação inversa com o aumento do período de armazenamento das pupas de *D. saccharalis* a 10°C (Fig. 1, 2 e 3).

Efeito do armazenamento a frio no parasitismo de parentais e emergência de parentais e F1

O armazenamento a frio reduziu o parasitismo das fêmeas parentais de *T. howardi* ($F= 88,67$; $P= 0,0007$; $r^2= 0,96$). A porcentagem de parasitismo das pupas de *D. saccharalis* pelas fêmeas de *T. howardi* após o armazenamento a 10°C enquanto imaturos, foi de 84 e 54% quando armazenadas por um período de cinco e 25 dias, respectivamente (Fig. 4).

A porcentagem de emergência da geração parental após o armazenamento enquanto imaturos a 10°C por cinco dias foi semelhante a testemunha (100%), decrescendo posteriormente com o aumento do período de armazenamento ($F= 85,05$; $P= <0,0001$; $r^2= 0,97$). Após dez e 25 dias de armazenamento a porcentagem de emergência foi de 94 e 86%, respectivamente (Fig. 5)

A porcentagem de emergência da geração F1 de *T. howardi* após o armazenamento de seus parentais a 10°C em pupas de *D. saccharalis*, foi inversamente proporcional ao aumento do tempo de armazenamento ($F= 70,65$; $P= 0,001$; $r^2= 0,94$). Depois de cinco e 25 dias de armazenamento da geração parental de *T. howardi*, a porcentagem de emergência da geração F1 foi de 84 e 42%, respectivamente (Fig. 6).

Efeito do armazenamento a frio no período de desenvolvimento e razão sexual de parentais e F1

O armazenamento de *T. howardi* em desenvolvimento por diferentes períodos de tempo não afetou ($P > 0,05$) a duração do ciclo de vida desse parasitoide, descontando-se o período de condicionamento ao frio, sendo as médias semelhantes a testemunha. O período decorrido para a emergência após a remoção do armazenamento a baixa temperatura não

apresentou diferença entre os tratamentos ($P > 0,05$). Os adultos de *T. howardi* emergiram das pupas de *D. saccharalis*, em média após seis dias acondicionados a temperatura de 25°C.

O desenvolvimento da geração F1 variou significativamente com a duração do período de armazenamento de seus pais ($F= 230,61$; $P= 0,0005$; $R^2= 0,99$). O armazenamento a frio da geração parental por 25 dias causou um atraso de cerca de 5 dias no desenvolvimento da geração F1. Para os demais períodos de exposição ao frio, o aumento do período de desenvolvimento não ultrapassou dois dias, em comparação com os descendentes de parentais que não foram expostos ao frio (Fig. 7).

A razão sexual de *T. howardi* após o armazenamento a 10°C enquanto imaturos para todos os períodos de tempo não diferiu ($P > 0,05$) do valor encontrado para a testemunha $0,96 \pm 0,01$ (96% de fêmeas).

O armazenamento da geração parental de *T. howardi* teve uma significativa influência sobre a razão sexual da progênie F1 ($F= 49,19$; $P= 0,002$; $r^2= 0,93$). Fêmeas parentais produziram maior número de descendentes machos após o armazenamento em baixas temperaturas. Após 20 e 25 dias de armazenamento, a razão sexual encontrada foi de $0,67 \pm 0,04$ (67% de fêmeas) e $0,41 \pm 0,13$ (41% de fêmeas), respectivamente, enquanto que a razão sexual de descendentes de parentais não armazenados foi de $0,96 \pm 0,01$ (96% de fêmeas) (Fig. 8).

Efeito do armazenamento a frio na progênie de parentais e geração F1

A progênie parental de *T. howardi* por pupa de *D. saccharalis* armazenadas por cinco e dez dias foi semelhante a testemunha, decrescendo posteriormente, com o aumento do período de armazenamento ($F= 28,36$; $P= 0,006$; $r^2= 0,88$). Após 25 dias de armazenamento o número de indivíduos emergidos foi de $79,82 \pm 2,15$, enquanto que na testemunha, emergiram $101,04 \pm 1,35$ indivíduos (Fig. 9).

A progênie F1 de *T. howardi* decresceu com o aumento do período de armazenamento da geração parental a 10°C ($F= 51,43$; $P= 0,002$; $r^2= 0,93$). Após 15, 20 e 25 dias de armazenamento de seus pais, o número de adultos emergidos de *T. howardi* foi de $70,79 \pm 3,76$; $50,93 \pm 4,44$ e $22,88 \pm 2,52$, respectivamente (Fig. 10).

Efeito do armazenamento a frio na longevidade de parentais e geração F1

Houve uma interação significativa entre a duração do armazenamento a 10°C e a longevidade de adultos de *T. howardi*. A longevidade de fêmeas e machos da geração

parental e F1 de *T. howardi* foi inferior a testemunha em todos os tratamentos, porém, a longevidade da geração F1 apresentou maiores valores do que a dos seus parentais para todos os períodos de armazenamento (Tab.1)

Discussão

Desenvolvimento de *T. howardi* em pupas refrigeradas de *D. saccharalis*

O parasitoide *T. howardi* se desenvolveu em pupas de *D. saccharalis* armazenadas a baixa temperatura sob diferentes períodos de tempo. A progênie e longevidade de *T. howardi* foram afetados negativamente pelo armazenamento a frio das pupas do seu hospedeiro. Entretanto, os altos índices (acima de 90%) de parasitismo e emergência de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis*, após armazenamento a 10°C e a semelhança entre os valores do ciclo de vida e razão sexual entre os parasitoides emergidos das pupas de *D. saccharalis* não refrigeradas e refrigeradas por até 25 dias, confirmam que esse hospedeiro pode ser conservado a 10°C como uma estratégia de disponibilidade para possível utilização em programas de produção desse parasitoide.

O menor desempenho reprodutivo de *T. howardi* em pupas refrigeradas de *D. saccharalis* pode ser atribuído a qualidade nutricional do hospedeiro como fonte de alimentação para os imaturos desse parasitoide. A refrigeração por longos períodos de tempo pode causar modificações morfofisiológicas, físicas e bioquímicas, podendo comprometer a qualidade nutricional das pupas hospedeiras e consequentemente o desempenho reprodutivo de espécies parasitoides (Chen e Leopold 2007, Pereira et al. 2009, Mainali e Lim 2013). Embora haja uma menor produção de descendentes de *T. howardi* em pupas armazenadas de *D. saccharalis*, estes valores não são suficientemente baixos para comprometer a produção desse parasitoide. Além disso, o menor número de descendentes produzidos pode ser compensado pela otimização da produção de parasitoides em larga escala por meio da utilização de hospedeiros armazenados.

A longevidade de adultos de *T. howardi* emergidos de pupas de *D. saccharalis* apresentou decréscimo com o aumento do período de armazenamento dessas pupas a 10°C. Apesar disso, esses valores foram sempre superiores a 10 dias, que é tempo suficiente para que, quando liberados no campo, esses parasitoides encontrem seus hospedeiros e se reproduzam. Isto é importante, pois em criações massais de parasitoides, a capacidade de sobrevivência é um dos requisitos para o controle de qualidade dos insetos (van Lenteren 2000).

Uma das dificuldades encontradas na produção massal de parasitoides é a obtenção de grandes quantidades de hospedeiros adequados, quando eles são necessários. Dessa forma, a possibilidade de conservação de pupas de *D. saccharalis*, com viabilidade para a multiplicação de *T. howardi* será muito útil em programas de controle biológico com esse inimigo natural. Nosso estudo, indica que pupas de *D. saccharalis* podem ser armazenadas a 10°C por até 25 dias e posteriormente utilizadas como hospedeiras para a criação de *T. howardi* sem efeitos deletérios para a população desse parasitoide.

Efeito do armazenamento a frio sobre a qualidade biológica de *T. howardi*

O declínio gradual do parasitismo e da produção de descendentes de *T. howardi* após o armazenamento quando imaturos dentro do hospedeiro *D. saccharalis*, indica que a capacidade reprodutiva de *T. howardi* diminui com o aumento do período de exposição a baixas temperaturas. Vários estudos demonstram que o armazenamento a frio tem efeito negativo na capacidade reprodutiva da outros himenópteros parasitoides, quando estes são armazenados como imaturos dentro de seus hospedeiros (Foerster e Nakama 2002, Pitcher et al. 2002, Levie et al. 2005, López e Botto 2005, Chen et al. 2008a, Bourdais et al. 2012). A ausência de redução da capacidade reprodutiva tem sido relatada em apenas alguns casos raros, como em *Aphidius gifuensis* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) (Chen et al. 2005) e em *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Aphidiinae) (Ismail et al. 2010), mas estes resultados foram obtidos sob condições que podem causar pouco estresse aos indivíduos armazenados, como temperaturas flutuantes ou muito acima da temperatura base (Colinet e Bolvin 2011).

A exposição ao frio exerce um efeito prejudicial sobre os imaturos durante o armazenamento, que é transportado de forma latente e expresso como uma diminuição da incidência de parasitismo e fecundidade pelas fêmeas adultas (Chen et al. 2008a). Um possível motivo para a diminuição da produção de descendentes é a reabsorção dos ovos durante o armazenamento para combater a redução das reservas de energia necessárias para a sobrevivência, sendo, o número de ovos reabsorvidos, proporcional a temperatura e ao tempo de exposição ao frio (Chen et al. 2008b). Assim, uma redução do número de ovos maduros disponíveis para oviposição após a remoção do armazenamento a baixas temperaturas, também poderia ser responsáveis por uma diminuição no parasitismo (Chen et al. 2008a). A capacidade reprodutiva, após o armazenamento a baixas temperaturas, pode ainda ser afetada pela redução da habilidade das fêmeas parasitoides de reconhecer e avaliar a qualidade de seus hospedeiros (van Baaren et al. 2005; Bourdais et al. 2012), de

usar informações aprendidas e de perceber marcas químicas (van Baaren et al. 2005), podendo afetar seriamente a exploração e a localização de seus hospedeiros em condições de campo.

A contribuição de fêmeas parasitoides para a próxima geração é determinada pelo parasitismo bem sucedido, que como citado anteriormente depende da capacidade de encontrar hospedeiros e de colocar ovos. A contribuição de machos parasitoides depende de sua capacidade de adquirir companheiras (atração para o odor da fêmea) e acasalar com sucesso (Bourdais et al. 2012). O estresse causado pelo frio é conhecido por causar alteração no comportamento de acasalamento e no sucesso de reprodução (Shreve et al. 2004). Quando imaturos de *Anagyrus ananatis* Gahan (Hymenoptera: Encyrtidae) foram expostos a baixas temperaturas, as fêmeas desse parasitoide produziram somente descendentes machos. Segundo os autores, a exposição ao frio pode ter tornado os machos incapazes de copular ou de produzir espermatozoides viáveis (Pandey e Johnson 2005). Machos de *Aphidius rhopalosiphi* De Stephani Perez (Hymenoptera: Braconidae) após a exposição ao frio quando imaturos não foram capazes de reconhecer os odores emitidos pelas fêmeas, ocasionando diminuição na taxa de acasalamento pela incapacidade de reconhecimento da parceira (Bourdais et al. 2012). Alguns autores sugerem ainda, que alterações morfológicas na estrutura da antena induzidas pelo frio poderiam impactar negativamente a aceitação do parceiro durante o acasalamento, isso porque as antenas desempenham um papel importante durante a corte (Bourdais et al. 2006, Amice et al. 2008). Redução da mobilidade após armazenamento a frio é outro fator que pode contribuir para a diminuição do sucesso de acasalamento (Tezze e Botto 2004, Ayvaz et al. 2008, Colinet e Hance 2009). Entretanto, não se sabe se a ausência de acasalamento resulta de uma alteração de comportamento do macho, da fêmea ou de ambos os sexos (Colinet e Boivin 2011).

Como demonstrado, diversos são os fatores responsáveis por causar alterações no sucesso reprodutivo de parasitoides, resultando em maior produção de machos após o armazenamento a baixa temperatura. Alterações da razão sexual também podem ocorrer devido a mortalidade diferenciada entre os sexos quando imaturos são expostos ao frio como relatado para *Telenomus busseolae* Gahan (Hymenoptera: Scelionidae) (Bayram et al. 2005) e *Gonatocerus ashmeadi* Girault (Hymenoptera: Mymaridae) (Chen et al. 2008a). Vários autores tem relatado mudanças na razão sexual, com produção de maior número de machos nos descendentes F1 de parasitoides expostos ao frio (Foerster e Nakama 2002,

Pitcher et al. 2002, Levie et al. 2005, Chen et al. 2008b, Ismail et al. 2010) corroborando com os nossos resultados.

O mecanismo pelo qual ocorre a passagem dos efeitos causados pelo estresse devido a exposição ao frio da geração parental para a próxima geração é desconhecido (Colinet e Boivin 2011). Uma possível razão é que a qualidade de ovos das fêmeas armazenadas por muito tempo pode diminuir (Chen et al. 2011). O parasitoide *G. ashmeadi* foi avaliado sob diferentes situações: (i) armazenamento a frio de ovos do seu hospedeiro causaram efeitos prejudiciais nas gerações parentais e F1, porém esses efeitos não se estenderam para a geração F2 (Chen e Leopold 2007), (ii) armazenamento a frio como imaturos dentro do hospedeiro induziram muitos efeitos adversos sobre a geração parental exposta ao frio e esses efeitos não se estenderam para geração F1 e F2 (Chen et al. 2008a), (iii) o armazenamento de *G. ashmeadi* como adulto reduziu várias características de aptidão (fecundidade, emergência, desenvolvimento, longevidade) dos parentais e da sua descendência F1, mas esses efeitos não se prolongaram para as gerações F2 e F3 (Chen et al. 2008b). Como demonstrado, os efeitos causados pelo estresse devido a exposição a frio nem sempre são passados para a próxima geração. Imaturos de *Encarsia formosa* Gahan e *Eretmocerus corni* Haldeman (Hymenoptera: Aphelinidae) quando armazenados a frio sofreram efeitos adversos que não foram passados para sua descendência F1 (López e Botto 2005).

O período total de desenvolvimento de *T. howardi* a 25°C, é de aproximadamente 17 dias. Neste estudo, os parasitoides emergiram como adultos dentro de um intervalo de 6 dias após a remoção do armazenamento a baixa temperatura. Assim, houve quase uma resposta imediata pela maioria dos parasitoides a retomar o desenvolvimento depois de terem sido removidos do armazenamento. A retomada imediata das condições de desenvolvimento de *T. howardi* ao final do período de exposição a baixa temperatura, indica que a resposta do parasitoide as condições de armazenamento a frio é entrar em estado de dormência conhecido como quiescência. A quiescência retarda as atividades metabólicas e é utilizada por organismos para suportar condições ambientais adversas, como baixa temperatura (Chen et al. 2008b, Chen et al. 2011). Estes resultados são consistentes com estudos semelhantes em *Trissolcus basalis* (Wollaston) e *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae) (Nakama e Foerster 2001), *Trichogramma carverae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (Rundle et al. 2004), *G. ashmeadi* (Chen et al. 2008a) e *Trichospilus diatraea* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) (Pastori et al. 2013).

O conhecimento do tempo que os parasitoides necessitam para emergir após a remoção do armazenamento a frio é interessante do ponto de vista do transporte dos parasitoides do laboratório de criação massal para o local de liberação (López e Botto 2005). Após a produção, os inimigos naturais devem ser enviados para os locais de liberação tão logo seja possível, e facilidades e conhecimento quanto ao armazenamento possibilitam as biofábricas terem suprimentos de reserva desses agentes para compensar períodos de baixa produção ou períodos inesperados de alta demanda por esses agentes, assim como fazer um planejamento da produção massal (van Lenteren 2000).

A exposição de imaturos de parasitoides a baixa temperatura geralmente diminui a longevidade dos adultos que sobrevivem (Pandey e Johnson 2005, Rundle et al. 2004, Colinet e Boivin 2011, Pastori et al. 2013). Imaturos e adultos de *T. basalis* e *T. podisi* expostos a baixas temperaturas tiveram a longevidade reduzida após a remoção do armazenamento (Foerster et al. 2004, Foerster e Doetzer 2006). Não está claro, no entanto, se alguma atividade fisiológica é alterada quando parasitoides são expostos a baixas temperatura (Hance et al. 2007). O que se sabe é que, o armazenamento em temperaturas baixas podem produzir adultos com menor reserva corporal e, consequentemente, menor longevidade (Bernardo et al. 2008) como relatado para *Trichogramma nerudai* Pintureau and Gerding (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (Tezze e Botto 2004). Isso ocorre porque, um maior número de recursos é esgotado durante longos períodos de armazenamento a frio (Colinet et al. 2006, Chen et al. 2013). Além disso, a falta de alimento e a perda de água durante o armazenamento também, podem reduzir a longevidade (Chen et al. 2011)

A gravidade da lesão induzida pelo frio em insetos é modulada pela temperatura e tempo de exposição (Luczynski et al. 2007). Nossos resultados estão de acordo com estes autores, e mostram que, o prolongamento do acondicionamento a frio de *T. howardi* na fase imatura dentro do seu hospedeiro causou efeitos negativos nos indivíduos armazenados e esses efeitos se estenderam para os seus descendentes F1. Assim, imaturos de *T. howardi* podem ser armazenados a 10°C com o objetivo de manter e acumular parasitoides durante a produção massal para futuro lançamento em programa de controle biológico por até dez dias, sem grandes perdas para as gerações parental e F1, não sendo recomendado o armazenamento após esse período devido a baixa viabilidade dos parasitoides.

Conclusões

Pupas de *D. saccharalis* podem ser armazenadas a 10°C por até 25 dias e posteriormente utilizadas para a multiplicação de *T. howardi* sem efeitos danosos para a população desse parasitoide.

Imaturos de *T. howardi* podem ser armazenados dentro do hospedeiro *D. saccharalis* a 10°C por até dez dias sem comprometer os aspectos biológicos das gerações parental e F1.

Referencias

- ABBOTT, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265–267.
- AMICE, G., VERNON, P., OUTREMAN, Y., VAN ALPHEN, J., VAN BAAREN, J. 2008. Variability in responses to thermal stress in parasitoids. Ecol. Entomol. 33: 701–708.
- AYVAZ, A., KARASU, E., KARABÖRKLÜ, S., TUNÇBILEK, A.S. 2008. Effects of cold storage, rearing temperature, parasitoid age and irradiation on the performance of *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). J. Stored Prod. Res. 44: 232–240.
- BERNARDO, U., IODICE, L., SASSO, R., PEDATA, P.A. 2008. Effect of cold storage on *Thripobius javae* (= *T. semiluteus*) (Hymenoptera: Eulophidae). Biocontrol Sci. Techn. 18: 921–933.
- BOURDAIS, D., VERNON, P., KRESPI, L., LE LANNIC, J., VAN BAAREN, J. 2006. Antennal structure of male and female *Aphidius rhopalosiphi* DeStefani-Peres (Hymenoptera: Braconidae): Description and morphological alterations after cold storage or heat exposure. Microsc. Res. Techniq. 69: 1005–1013.
- BOURDAIS, D., VERNON, P., KRESPI, L., VAN BAAREN J. 2012. Behavioural consequences of cold exposure on males and females of *Aphidius rhopalosiphi* De Stephani Perez (Hymenoptera: Braconidae). BioControl 57: 349–360.
- BAYRAM A., OZCAN, H., KORNOSOR, S. 2005. Effect of cold storage on the performance of *Telenomus busseolae* Gahan (Hymenoptera: Scelionidae): an egg parasitoid of *Sesamia nonagrioides* (Lefebvre) (Lepidoptera: Noctuidae). Biol. Control 35: 68–77.
- CHEN, H., OPIT, G.P., SHENG, P., ZHANG, H. 2011. Maternal and progeny quality of *Habrobracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) after cold storage. Biol. Control 58: 255–261.

- CHEN, H., ZHANG, H., ZHU, K.Y., THRONE J. 2013. Performance of diapausing parasitoid wasps, *Habrobracon hebetor*, after cold storage. *Biol. Control* 64: 186–194.
- CHEN, M., HAN, Z., WANG, R. 2005. A preliminary study on effects of cold storage on pupae of *Aphidius gifuensis* Ashmead. *Plant Protection* 31: 41–43.
- CHEN, W-L., LEOPOLD, R.A. 2007. Progeny quality of *Gonatocerus ashmeadi* (Hymenoptera: Mymaridae) reared on stored eggs of *Homalodisca coagulata* (Hemiptera: Cicadellidae). *J. Econ. Entomol.* 100: 685-694.
- CHEN, W-L., LEOPOLD, R., HARRIS, M.O. 2008a. Cold storage effects on maternal and progeny quality of *Gonatocerus ashmeadi* Girault (Hymenoptera: Mymaridae). *Biol. Control* 46: 122–132.
- CHEN, W-L., LEOPOLD, R.A., BOETEL, M.A. 2008b. Cold storage of adult *Gonatocerus ashmeadi* (Hymenoptera: Mymaridae) and effects on maternal and progeny fitness. *J. Econ. Entomol.* 101: 1760–1770.
- COLINET, H., HANCE, T., VERNON, P. 2006. Water relations, fat reserves, survival, and longevity of a cold-exposed parasitic wasp *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Aphidiinae). *Environ. Entomol.* 35: 228–236.
- COLINET, H., HANCE, TH. 2009. Male reproductive potential of *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Aphidiinae) exposed to constant or fluctuating thermal regimes. *Environ. Entomol.* 38: 242–249.
- COLINET, H., BOIVIN, G. 2011. Insect parasitoids cold storage: A comprehensive review of factors of variability and consequences. *Biol. Control* 58: 83–95.
- CRUZ, I., REDOAN, A.C., SILVA, R.B., FIGUEIREDO, M.L.C., PENTEADO-DIAS, A.M. 2011. New record of *Tetrastichus howardi* (Olliff) as a parasitoid of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) on maize. *Sci. Agric.* 68: 252–254.
- FOERSTER, L.A., NAKAMA, P.A. 2002. Effect of cold storage on the reproductive capacity and longevity of *Trissolcus basalis* (Wollaston) and *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae). *Neotrop. Entomol.* 31: 115–120.

- FOERSTER, L.A., DOETZER, A.K., DE CASTRO, L.C.F. 2004. Emergence, longevity and fecundity of *Trissolcus basalis* and *Telenomus podisi* after cold storage in the pupal stage. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 39: 841–845.
- FOERSTER, L.A., DOETZER, A.K. 2006. Cold storage of the egg parasitoids *Trissolcus basalis* (Wollaston) and *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae). *Biol. Control* 36: 232–237.
- GONZÁLEZ, J.F.A. 2004. Estudios Bioecológicos, Reproducción Artificial y Liberación de *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae), Parasitoide Pupal de *Diatraea saccharalis* (Fab.) en Cuba. Tese (Doutorado em Ciências Agrícolas). Universidad Central de Las Villas. Santa Clara, Cuba, 179 pp.
- HANCE, T., VAN BAAREN, J., VERNON, P., BOIVIN, G. 2007. Impact of extreme temperatures on parasitoids in a climate change perspective. *Annu. Rev. Entomol.* 52: 107–126.
- ISMAIL, M., VERNON, P., HANCE, T., VAN BAAREN, J. 2010. Physiological costs of cold exposure on the parasitoid *Aphidius ervi*, without selection pressure and under constant or fluctuating temperatures. *BioControl* 55: 729–740.
- LA SALLE, J., POLASZEK, A. 2007. Afrotropical species of the *Tetrastichus howardi* species group (Hymenoptera: Eulophidae). *Afr. Entomol.* 15: 45–56.
- LEVIE, A., VERNON, P., HANCE, T. 2005. Consequences of acclimation on survival and reproductive capacities of cold-stored mummies of *Aphidius rhopalosiphii* (Hymenoptera: Aphidiinae). *J. Econ. Entomol.* 98: 704–708.
- LÓPEZ, S.N., BOTTO, E. 2005. Effect of cold storage on some biological parameters of *Eretmoceris corni* and *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Biol. Control* 33: 123–130.
- LUCZYNSKI, A., NYROP, J.P., SHI, A. 2007. Influence of cold storage on pupal development and mortality during storage and on post-storage performance of *Encarsia formosa* and *Eretmoceris eremicus* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Biol. Control* 40: 107–117.

- MAINALI, B.P., LIM, U.T. 2013. Quality assessment of *Riptortus pedestris* (Hemiptera: Alydidae) eggs cold-stored at different temperature and relative humidity regime. *Biol. Control* 64: 132–137.
- MÉLO, A.B.P., PARRA, J.R.P. 1988. Exigências térmicas e estimativa do número de gerações de anuais da broca da cana-de-açúcar em quatro localidades canavieiras de São Paulo. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 23: 691–696.
- NAKAMA, P.A., FOERSTER, L.A. 2001. Efeito da alternância de temperaturas no desenvolvimento e emergência de *Trissolcus basal* (Wollaston) e *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae). *Neotrop. Entomol.* 30: 269–275.
- PANDEY, R.R., JOHNSON, M.W. 2005. Effects of cool storage on *Anagyrus ananatis* Gahan (Hymenoptera: Encyrtidae). *Biol. Control* 35: 9–16.
- PARRA, J.R.P. 2007. Técnicas de Criação de Insetos para Programa de Controle Biológico. 6ª ed. Piracicaba: ESALQ/FEALQ. Brasil, 134 pp.
- PASTORI, P.L., ZANUNCIO, J.C., PEREIRA, F.F., PRATISSOLI, D., CECON, P.R., SERRÃO, J.E. Temperatura e tempo de refrigeração de pupas de *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae) afetam parâmetros biológicos de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae)? *Semina: Ci. Agrárias* 34:1493–1508.
- PEREIRA, F.F., ZANUNCIO, J.C., SERRAO, J.E., PASTORI, P.L., RAMALHO, F.S. 2009. Reproductive performance of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) with previously refrigerated pupae of *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). *Braz. J. Biol.* 69: 865–869.
- PITCHER, S.A., HOFFMANN, M.P., GARDNER, J., WRIGHT, M.G., KUCHAR, T.P. 2002. Cold storage of *Trichogramma ostrinae* reared on *Sitotroga cerealella* eggs. *BioControl* 47: 525–535.
- RUNDLE, B.J., THOMSON, L.J., HOFFMANN, A.A. 2004. Effects of cold storage on field and laboratory performance of *Trichogramma carverae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and the response of three *Trichogramma* spp. (*T. carverae*, *T. nr. brassicae*, and *T. funiculatum*) to cold. *J. Econ. Entomol.* 97: 213–221.

- SHREVE, S.M., KELTY, J.D., LEE, R.E. JR. 2004. Preservation of reproductive behaviors during modest cooling: rapid coldhardening fine-tunes organismal response. *J. Exp. Biol.* 207: 1797–1802
- TEZZE, A.A., BOTTO, E.N. 2004. Effect of cold storage on the quality of *Trichogramma nerudai* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Biol. Control* 30: 11–16.
- VAN BAAREN, J., OUTREMAN, Y., BOIVIN, G. 2005. Effect of low temperature exposure on oviposition behaviour and patch exploitation strategy in parasitic wasps. *Anim. Behav.* 70: 153–163.
- VAN LENTEREM, J.C. 2000. Controle de Qualidade de Agentes de Controle Biológico Produzidos Massalmente: Conhecimento, Desenvolvimento e Diretrizes. In Bueno, VHP. (Ed.). *Controle Biológico de Pragas: Produção Massal e Controle de Qualidade*. Lavras: UFLA. p. 21–40.
- VARGAS, E.L., PEREIRA, F.F., TAVARES, M.T., PASTORI, P.L. 2011. Record of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Diatraea* sp. (Lepidoptera: Crambidae) in sugarcane crop in Brazil. *Entomotropica* 26: 143–146.

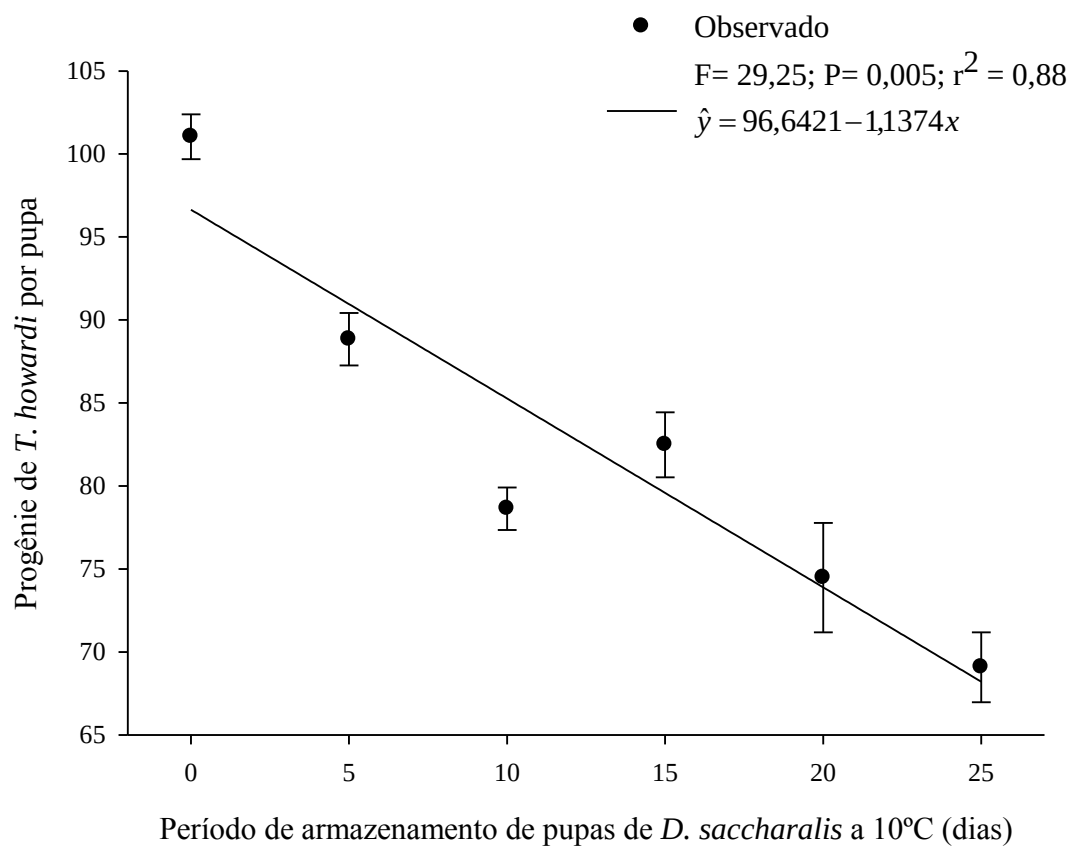


Fig. 1. Progenie de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) por pupa de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) após seis períodos de armazenamento e fotofase de 12 h.

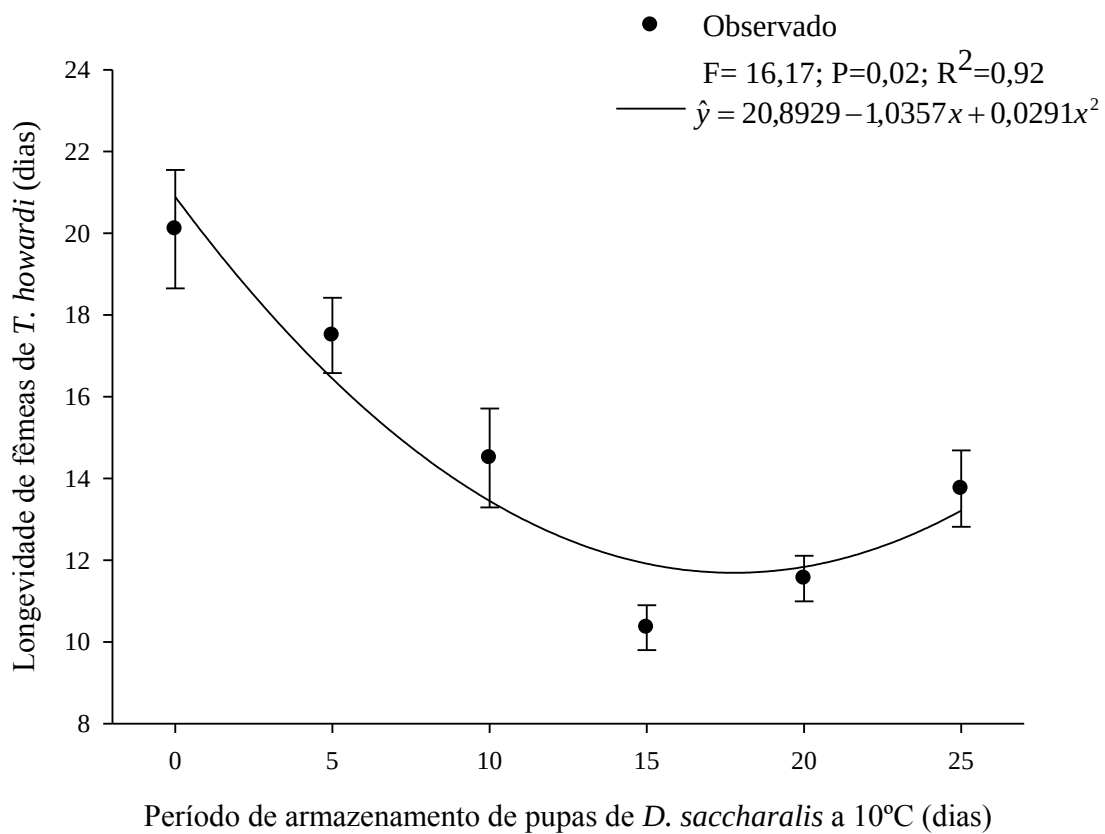


Fig. 2. Longevidade (dias) de fêmeas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) emergidas de pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) após seis períodos de armazenamento e fotofase de 12 h.

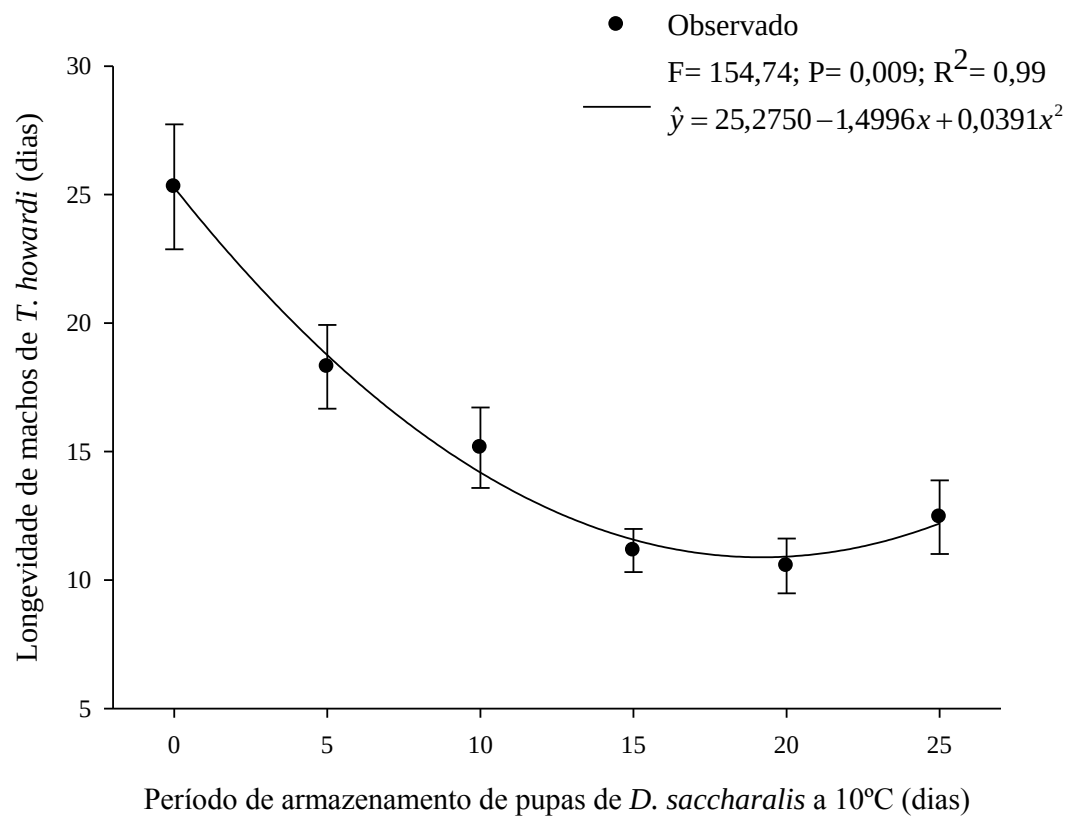


Fig. 3. Longevidade (dias) de machos de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) emergidos de pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) após seis períodos de armazenamento e fotofase de 12 h.

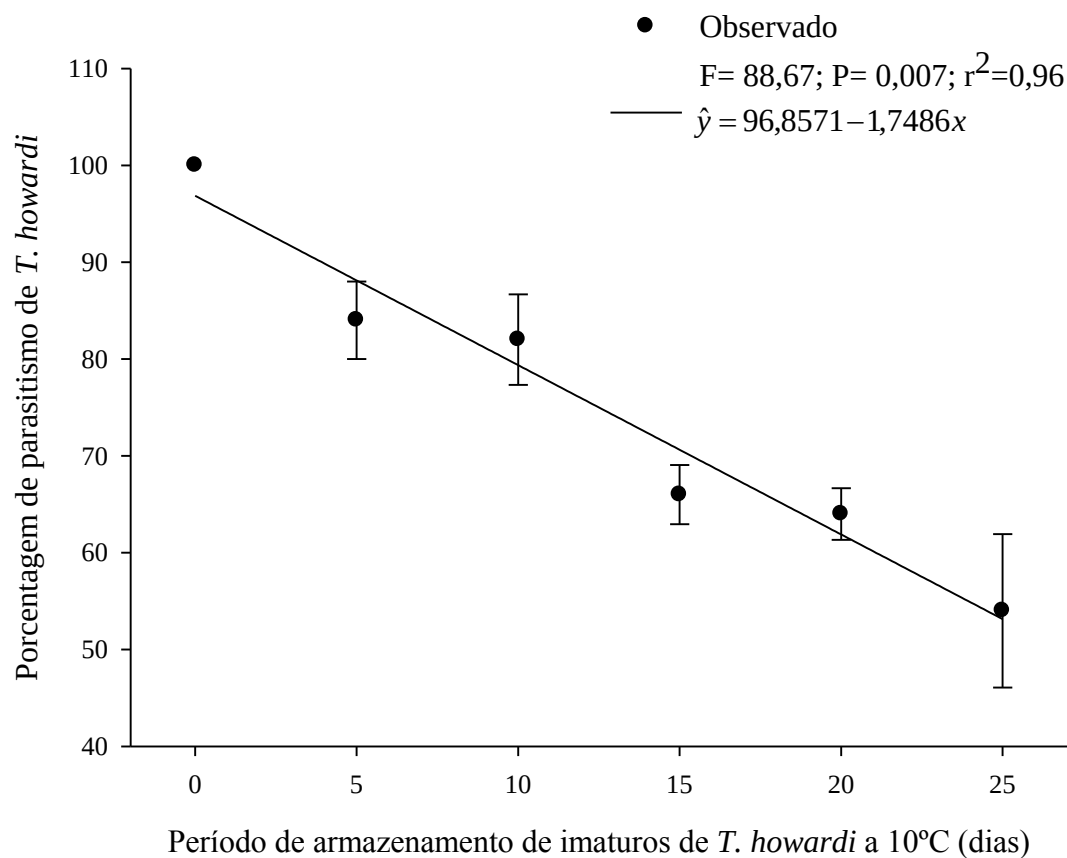


Fig. 4. Porcentagem de pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) parasitadas por fêmeas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) após o armazenamento enquanto imaturos a 10°C e fotofase de 12 h.

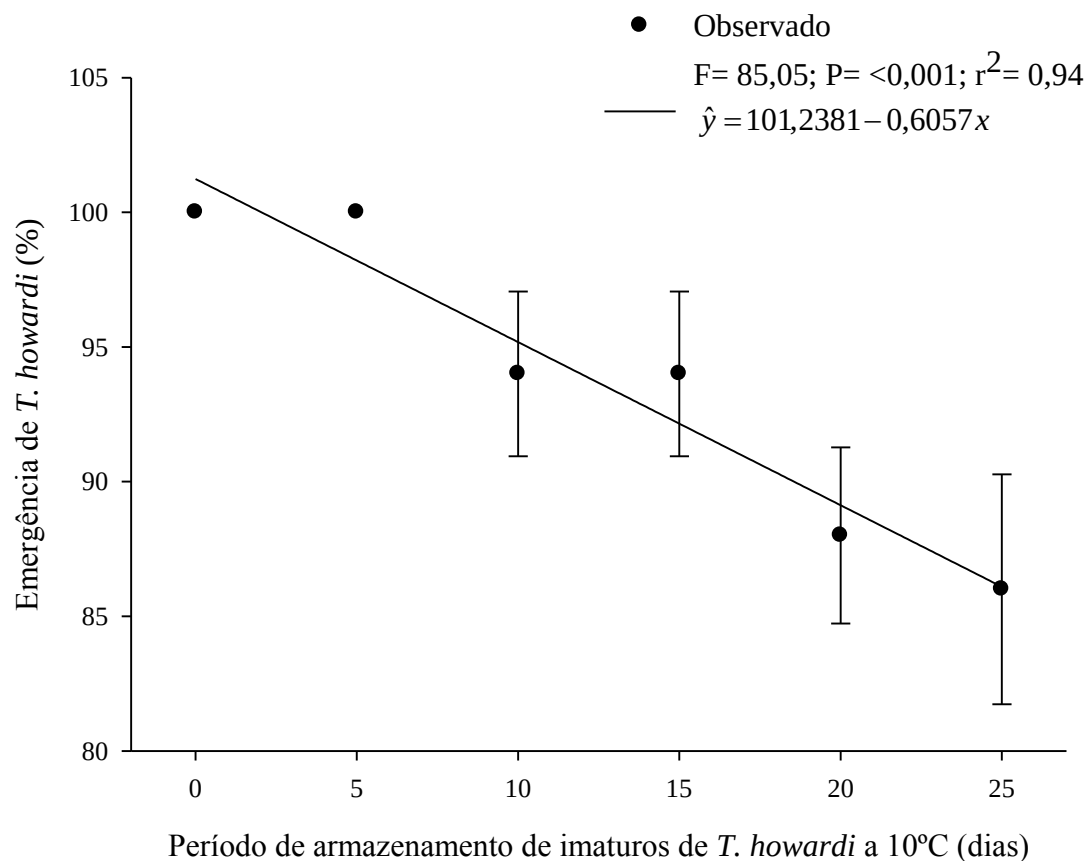


Fig. 5. Porcentagem de pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) com emergência de adultos de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) após o armazenamento enquanto imaturos a 10°C e fotofase de 12 h.

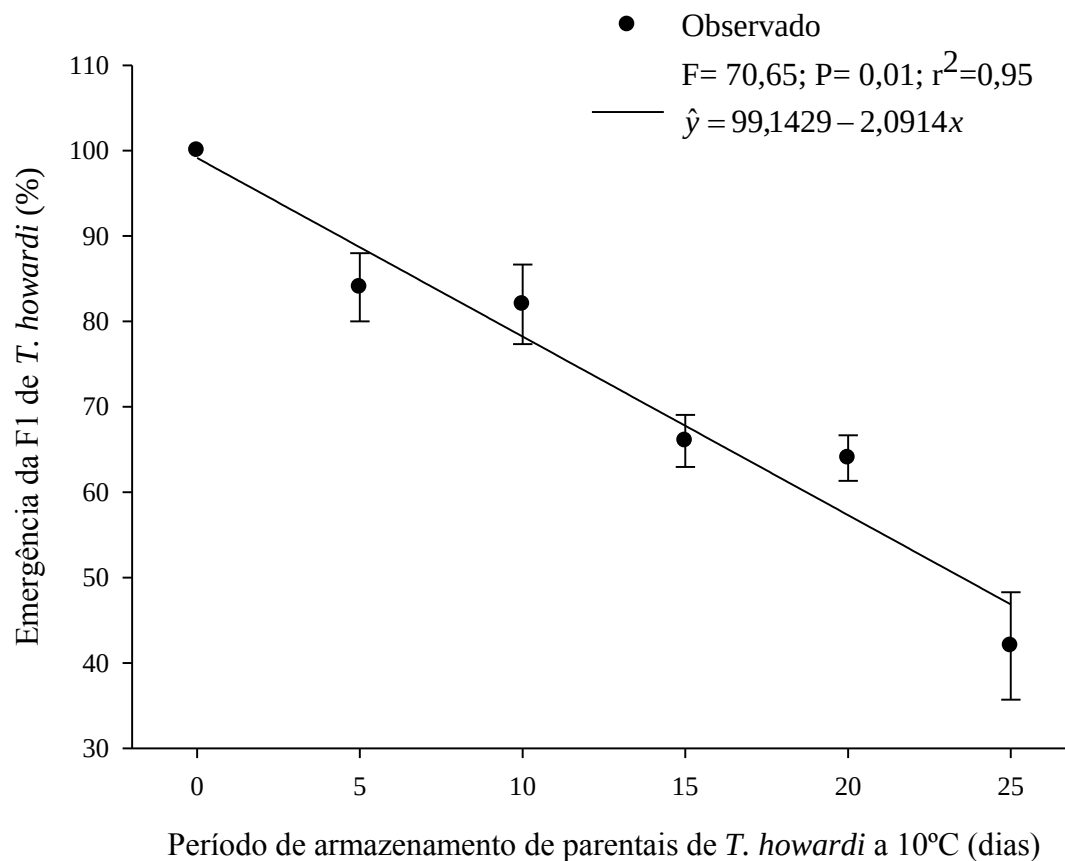


Fig. 6. Porcentagem de pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) com emergência de adultos da geração F1 de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) após o armazenamento dos seus parentais a 10°C e fotofase de 12 h.

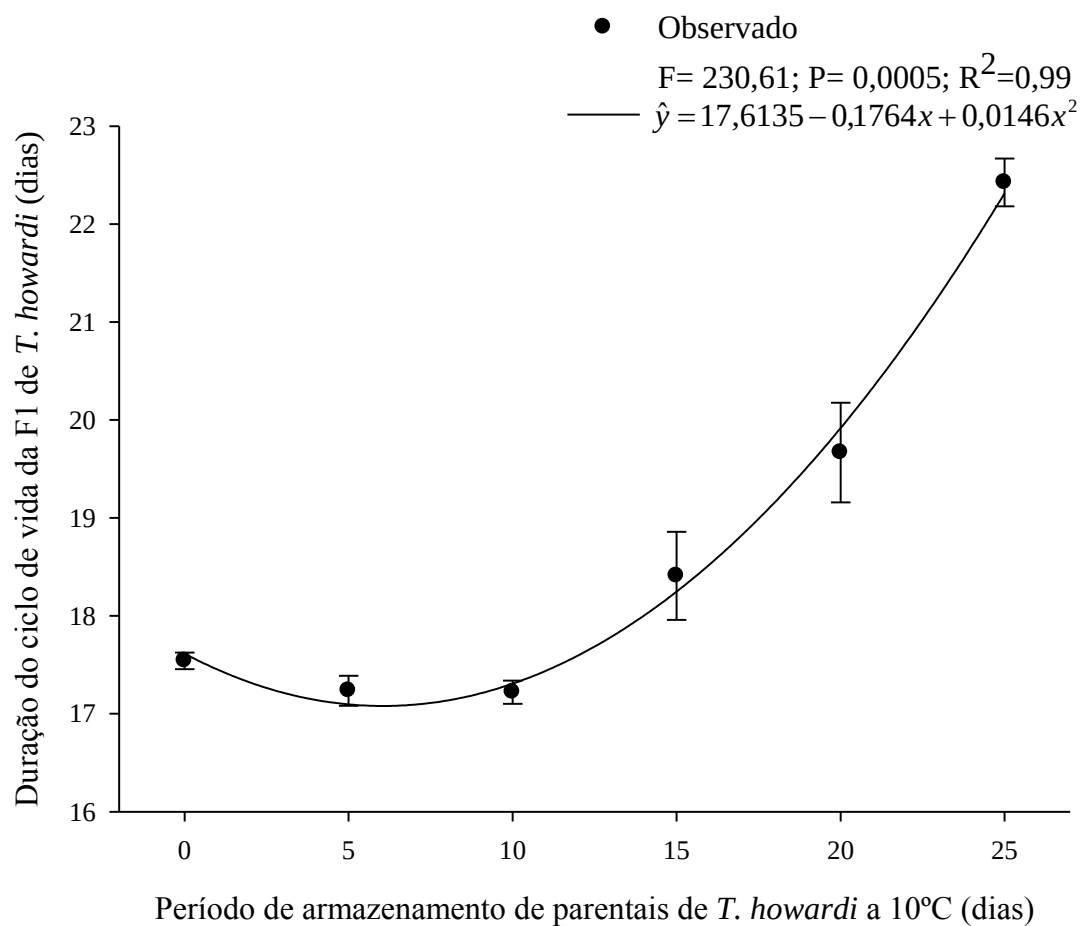


Fig. 7. Duração do ciclo de vida (ovo-adulto) da F1 de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) após o armazenamento de seus parentais a 10°C e fotofase de 12 h.

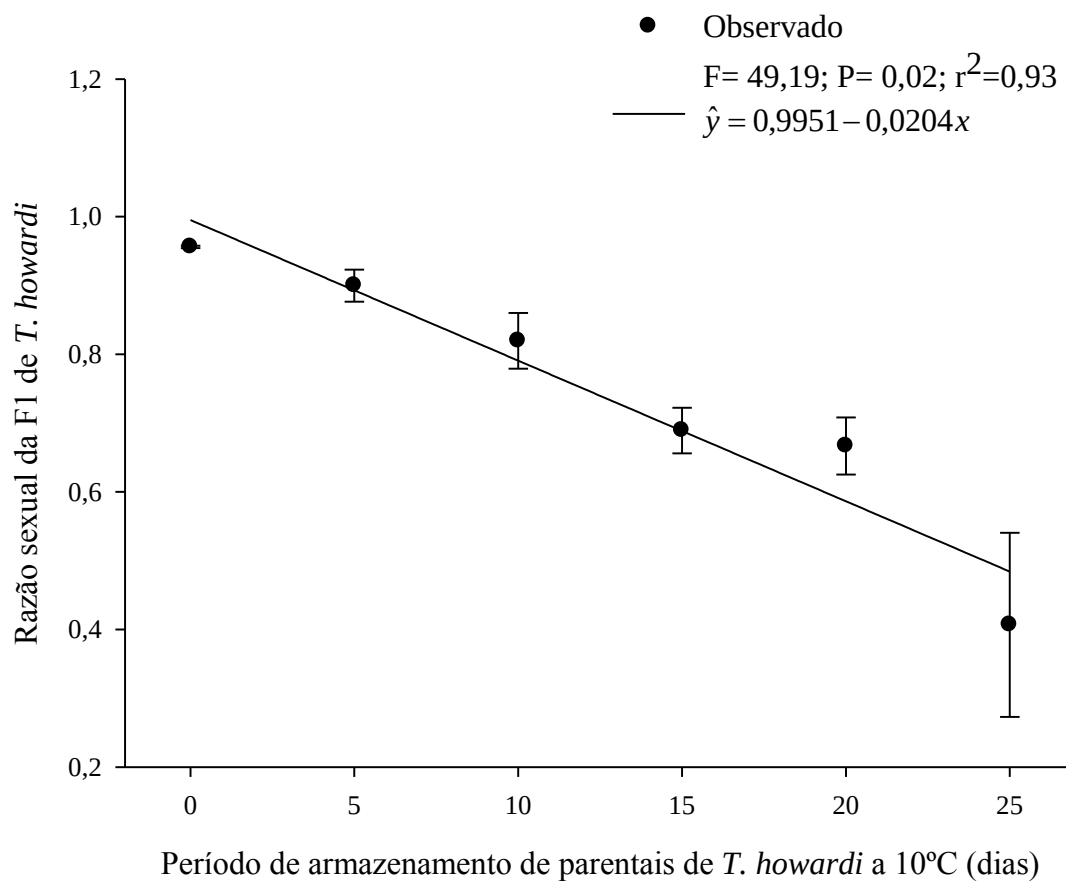


Fig. 8. Razão sexual da F1 de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) emergidos de pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) após o armazenamento de seus parentais a 10°C e fotofase de 12 h.

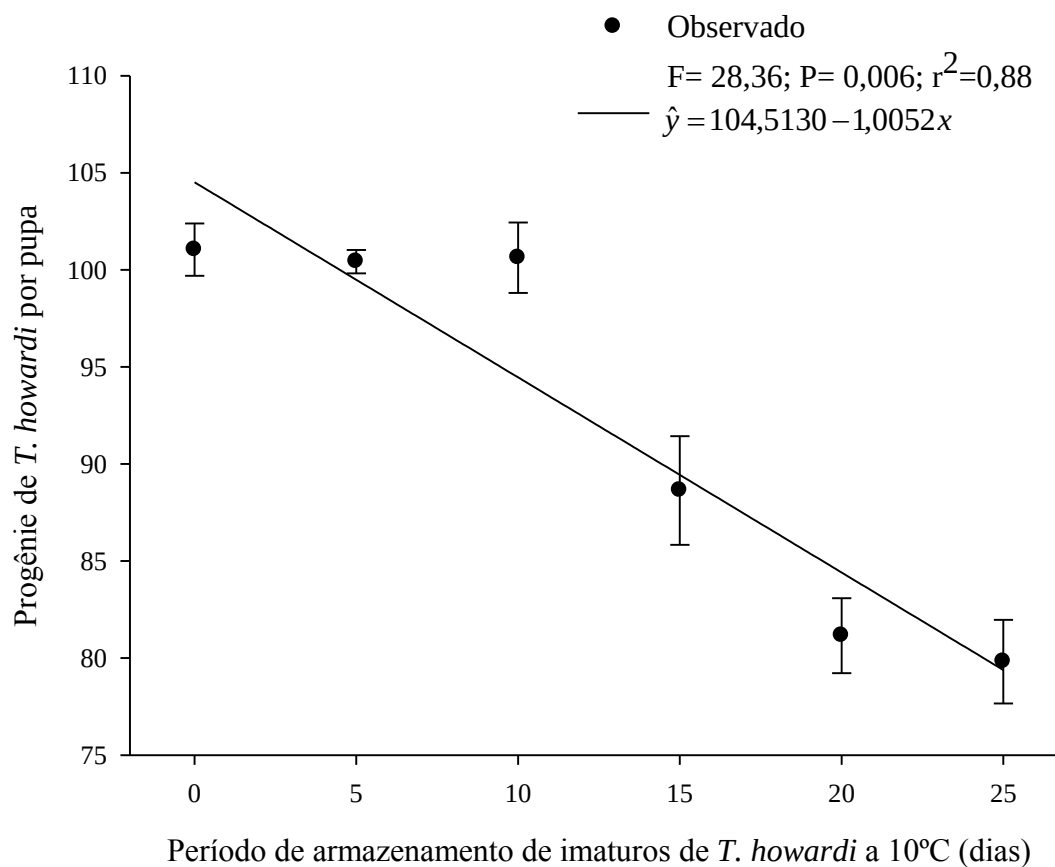


Fig. 9. Progenie de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) por pupa de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) após o armazenamento enquanto imaturos a 10°C e fotofase de 12 h.

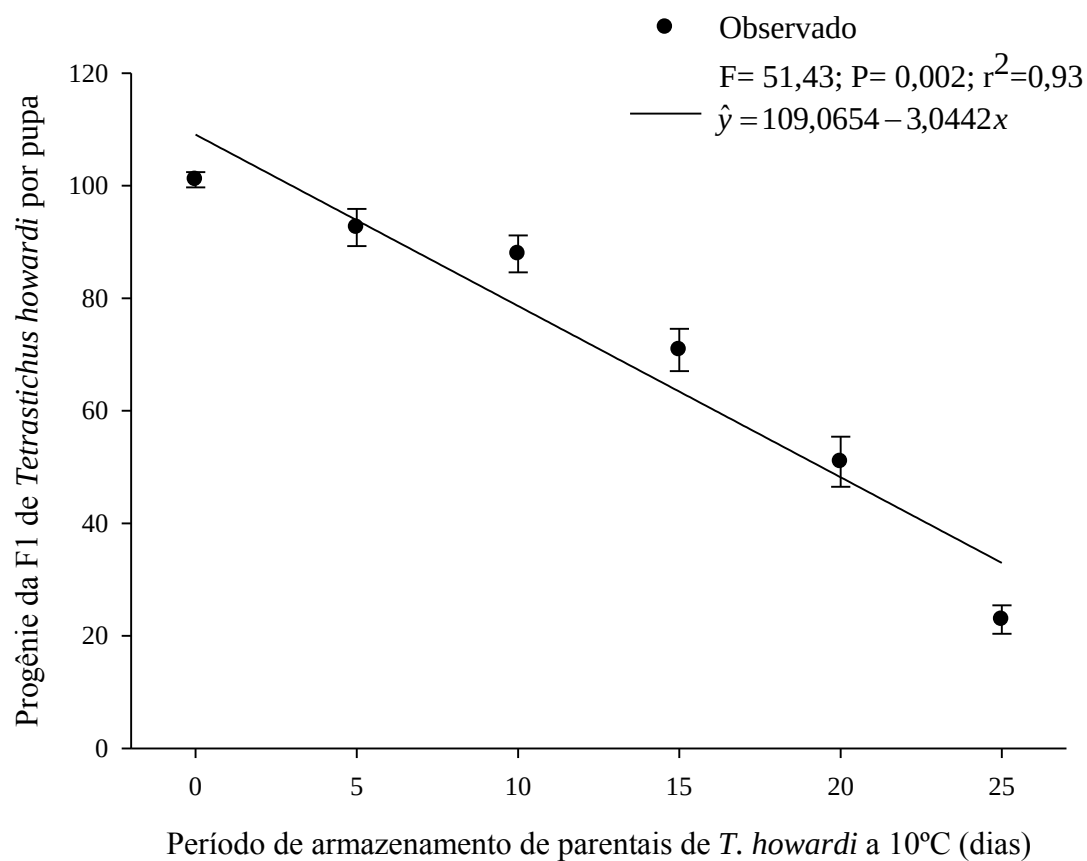


Fig. 10. Progenie da F1 de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) por pupa de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) após o armazenamento de seus parentais a 10°C e fotofase de 12 h.

Tabela 1. Longevidade de fêmeas e machos de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) emergidos de pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) após seis períodos de armazenamento a 10°C e fotofase de 12 h.

Período de armazenamento (dias)	Longevidade Geração Parental (dias)		Longevidade Geração F1 (dias)	
	♀	♂	♀	♀
0	19,40 ± 1,40	23,40 ± 1,33	20,10 ± 1,45	25,30 ± 2,43
5	8,60 ± 0,54	8,25 ± 1,42	13,50 ± 0,83	12,40 ± 0,85
10	9,35 ± 0,49	7,55 ± 0,82	12,55 ± 0,85	12,75 ± 1,02
15	9,60 ± 1,07	7,40 ± 0,97	13,15 ± 0,70	12,95 ± 0,61
20	10,45 ± 0,95	9,45 ± 1,08	13,65 ± 0,96	13,85 ± 0,97
25	9,85 ± 1,35	10,00 ± 1,22	13,30 ± 0,70	13,50 ± 0,94

CONCLUSÕES FINAIS

O parasitoide *T. howardi* se desenvolveu em pupas de *D. saccharalis* nas temperaturas entre 16 e 31°C, com 100% de emergência nessas temperaturas. A 33°C *T. howardi* não foi capaz de completar seu desenvolvimento.

A duração do ciclo biológico (ovo-adulto) de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis* e a longevidade de adultos de *T. howardi* foram inversamente proporcional ao aumento da temperatura.

A razão sexual de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis* foi de $0,96 \pm 0,01$ (96% de fêmeas), não havendo diferença significativa entre as temperaturas.

A temperatura base (T_b) e a constante térmica (K) de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis* foram de 9,66°C e 292,89 graus-dia (GD), respectivamente.

O número estimado de gerações anuais de *T. howardi* para o município de Dourados foi de 15,86, enquanto *D. saccharalis* não excede 6,23 gerações por ano.

Fêmeas de *T. howardi* apresentaram maior fecundidade (produção de descendentes) em pupas de *D. saccharalis* a 25°C.

A oviposição das fêmeas de *T. howardi* foi iniciada no dia em que as mesmas entraram em contato com as pupas de *D. saccharalis*, sendo observado maior produção de descendentes neste primeiro dia de parasitismo em todas as temperaturas testadas.

Os parâmetros estimados através da tabela de vida de fertilidade resultaram em maior taxa líquida de reprodução (R_0) a 25°C, enquanto a taxa intrínseca de crescimento populacional (r_m) foi superior e similar entre as temperaturas de 25, 28 e 31°C.

Pupas de *D. saccharalis* podem ser armazenadas a 10°C por até 25 dias sem perda dos parâmetros reprodutivos e de desenvolvimento de *T. howardi*.

A qualidade das gerações parentais e F1 de *T. howardi* decresceu com o aumento do período de exposição ao frio quando os parasitoides estavam na fase imatura dentro das pupas de *D. saccharalis*.

O parasitoide *T. howardi* pode ser armazenado a 10°C por até dez dias sem grandes perdas de seus aspectos biológicos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados aqui apresentados, fornecem subsídios para melhor entender o efeito do fator abiótico, temperatura, sobre parâmetros biológicos e de parasitismo de *T. howardi* sobre pupas de *D. saccharalis*. Além disso, nossos resultados revelam a capacidade da população do parasitoide em se desenvolver sob ampla faixa de temperatura, sendo indicativo de que *T. howardi* será capaz de se adaptar a diferentes regiões produtoras de cana-de-açúcar, cuja amplitude térmica seja semelhante à estudada.

O presente estudo, fornece ainda, informações importantes para a multiplicação de *T. howardi* em condições de laboratório, bem como, para a compreensão do seu potencial de desempenho biológico para a utilização no controle de *D. saccharalis*. E contribui também para o planejamento da criação massal através da possibilidade de estimativa da quantidade de parasitoides a serem produzidos a uma dada temperatura constante de criação.

Deve-se ainda, ressaltar que, estudos relacionados aos efeitos de temperaturas flutuantes e de armazenamento a frio de adultos desse parasitoide, devem ser realizados, para refinar o conhecimento da influência da temperatura sobre os parâmetros biológicos de *T. howardi*.