

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**BIOECOLOGIA COMPARADA DE DUAS LINHAGENS DE
Telenomus remus NIXON (HYMENOPTERA:
PLATYGASTRIDAE) PARASITANDO OVOS DE *Spodoptera*
frugiperda (J. E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

Natalia Naranjo Guevara

Bióloga

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**BIOECOLOGIA COMPARADA DE DUAS LINHAGENS DE
Telenomus remus NIXON (HYMENOPTERA:
PLATYGASTRIDAE) PARASITANDO OVOS DE *Spodoptera
frugiperda* (J. E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

Natalia Naranjo Guevara

Orientador: Prof. Dr. Odair Aparecido Fernandes

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Entomologia Agrícola).

2013

N218b Naranjo Guevara, Natalia
Bioecologia comparada de duas linhagens de *Telenomus remus*
Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) parasitando ovos de *Spodoptera*
frugiperda (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) / Natalia Naranjo
Guevara. -- Jaboticabal, 2013
xv, 74 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2013
Orientador: Odair Aparecido Fernandes
Banca examinadora: Marta Maria Rossi, Nelson Wanderley Periotto
Bibliografia

1. Controle biológico. 2. Criação massal. 3. Lagarta-do-cartucho. I.
Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 595.79:632.937

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.
e-mail: nnaranjoguevara@gmail.com

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: BIOECOLOGIA COMPARADA DE DUAS LINHAGENS DE *Telenomus remus* NIXON (HYMENOPTERA: PLATYGASTRIDAE) PARASITANDO OVOS DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

AUTORA: NATALIA NARANJO GUEVARA

ORIENTADOR: Prof. Dr. ODAIR APARECIDO FERNANDES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM AGRONOMIA (ENTOMOLOGIA AGRÍCOLA), pela Comissão Examinadora:



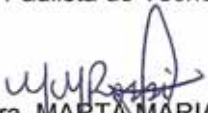
Prof. Dr. ODAIR APARECIDO FERNANDES

Departamento de Fitossanidade / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal



Prof. Dr. NELSON WANDERLEY PERIOTO

Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios / Ribeirão Preto/SP



Profa. Dra. MARTA MARIA ROSSI

Centro Universitário Moura Lacerda / Ribeirão Preto/SP

Data da realização: 14 de fevereiro de 2013.

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

NATALIA NARANJO GUEVARA – Nasceu em 31 de Abril de 1987, em Bogotá, Colômbia. Formou-se em Biologia pela Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colômbia em Setembro de 2009. Durante a graduação desenvolveu pesquisa relacionada com levantamento faunístico de himenópteros parasitoides em coberturas vegetais agrícolas e naturais, sob a orientação da Prof. MSc. Adriana Saénz Aponte. No mesmo período coordenou projetos de desenvolvimento de técnicas de controle do percevejo dos pastos *Collaria scenica* (Hemiptera: Miridae). Em 2010 realizou pesquisa no Manejo integrado de *Dasiops* sp. (Diptera: Lonchaeidae) e desenvolvimento de boas práticas agrícolas em culturas de maracujás (*Passiflora edulis* e *P. ligularis*). Em março de 2011 iniciou o curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Entomologia Agrícola, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal-SP, sendo integrante da equipe do Laboratório de Ecologia Aplicada, sob a orientação do Prof. Dr. Odair Aparecido Fernandes.

Ao meu pai, Alain António Naranjo, minha linda mãe, Luz Marina Guevara e ao meu irmão Julian Naranjo por todo o carinho, amor e a força sempre para continuar o caminho

OFEREÇO

*...Por un sueño cultivado hace algunos años,
alimentado con Passifloras del Sumapaz
y regado con aguas del Amazonas,
por mil cumbias más junto a ti
amor mio*

Daniel A. Villamil Montero

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal, pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa, a qual viabilizou a realização deste estudo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Odair Aparecido Fernandes, pela orientação, confiança, ensinamentos, grande amizade e por me receber neste país maravilhoso.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, pelos conhecimentos transmitidos durante as disciplinas e pela contribuição que deram à minha formação profissional.

Aos funcionários do Departamento de Fitossanidade, em especial à Márcia Regina Macri, pela grande amizade, colaboração incondicional e disponibilidade.

Aos estagiários do Laboratório de Ecologia Aplicada (APECOLAB) pela amizade, companheirismo e auxílio nos trabalhos: Audrey Hermes Konda, Daniela Costa, Daniela Ferretto Barros, Dayane Andrade dos Reis, Laíssa Cavallini e Mariele Monique Honorato Fernandes.

Aos meus amigos da pós-graduação Andrea Corrêa Varella, Alexandre Carlos Menezes-Netto, Daniel Ferreira Caixeta, Daniell Rodrigo Rodrigues Fernandes, José Antônio de Souza Rossato Junior, Juliana Duarte de Souza Alonso, Luan Alberto Odorizzi dos Santos e Nara Cristina Chiarini Pena Barbosa pelo grande apoio neste trabalho e valiosa amizade. Estão sempre no meu coração.

Agradeço especialmente a Daniel Antonio Villamil Montero por toda ajuda no desenvolvimento deste trabalho.

SUMARIO

	Página
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1. Introdução.....	1
2. Revisão de literatura.....	3
2.1 Aspectos da biologia e importância de <i>Spodoptera frugiperda</i>	3
2.2 Aspectos bioecológicos de <i>Telenomus remus</i>	4
2.3 Introdução de <i>T. remus</i> para o controle de <i>Spodoptera</i> spp. No mundo.....	5
2.4 Procedimentos para importações e processos quarentenários de organismos exóticos.....	10
2.5 Criação massal: efeitos sobre a qualidade dos inimigos naturais	11
3. Objetivos.....	14
3.1 Objetivo geral.....	14
3.2 Objetivos específicos.....	14
4. Referências	15
CAPÍTULO 2 – PROCESSOS QUARENTENARIOS E CONTROLE DE QUALIDADE DE UMA LINHAGEM DE <i>Telenomus remus</i> Nixon (HYMENOPTERA, PLATYGASTRIDAE) INTRODUZIDA PARA O CONTROLE DE <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. SMITH) (LEPIDOPTERA, NOCTUIDAE)	20
Resumo.....	20
1. Introdução.....	21
2. Material e métodos	23
2.1 Avaliação de climogramas.....	23
2.2 Insetos	23

2.3 Observação de contaminantes e identificação taxonômica	23
2.4 Especificidade dos organismos	24
2.5 Testes moleculares	25
2.5.1 Extração	25
2.5.2 Obtenção dos fragmentos de DNA	26
2.5.3 RFLP (Polimorfismo de comprimento dos fragmentos de restrição).....	27
2.4 Análise estatística	27
3. Resultados	28
3.1 Avaliação de climogramas	28
3.2 Observação de contaminantes e identificação taxonômica	29
3.3 Especificidade dos organismos	29
3.4 Testes moleculares	30
3.4.1 Extração	30
3.4.2 Obtenção dos fragmentos de DNA	30
3.4.3 RFLP (Polimorfismo de comprimento dos fragmentos de restrição)	31
4. Discussão	34
5. Referências	36
 CAPÍTULO 3 – BIOLOGIA COMPARADA E RESPOSTA FUNCIONAL DE DUAS LINHAGENS DE <i>Telenomus remus</i> Nixon (HYMENOPTERA, PLATYGASTRIDAE) SOBRE OVOS DE <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. SMITH) (LEPIDOPTERA, NOCTUIDAE)	 40
Resumo	40
1. Introdução.....	41
2. Material e métodos	43
2.1 Insetos	43
2.2 Biologia comparada	44
2.3 Resposta funcional	45
2.4 Controle de qualidade	46
2.5 Análise Estatística	48

3. Resultados	50
3.1 Biologia comparada	50
3.2 Resposta funcional	55
3.3 Controle de qualidade	58
4. Discussão	60
5. Referências	66
 CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS	 73

**BIOECOLOGIA COMPARADA DE DUAS LINHAGENS DE *Telenomus remus*
NIXON (HYMENOPTERA: PLATYGASTRIDAE) PARASITANDO OVOS DE
Spodoptera frugiperda (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

RESUMO - A criação massal em condições de laboratório afeta a atividade e vigor dos parasitoides e, conseqüentemente, o potencial como agentes de controle biológico. No Brasil, *Telenomus remus* foi introduzido em 1986 e obtiveram-se altos níveis de parasitismo sobre *Spodoptera frugiperda* em testes de laboratório. Entretanto, estes níveis não foram obtidos em condições de campo. Assim, para ampliar a base genética das linhagens e determinar possíveis diferenças na atividade e vigor, o presente estudo objetivou: (1) realizar a introdução de uma nova linhagem de *T. remus* no Brasil, a partir da Venezuela; (2) comparar a biologia das duas linhagens (uma coletada em culturas de milho e introduzida e outra, criada por cerca de 600 gerações em laboratório) por meio da avaliação de parâmetros reprodutivos e tabela de vida de fecundidade; (3) comparar as respostas funcionais; (4) avaliar a qualidade das linhagens utilizando-se a atividade de voo e a emergência como critérios. A espécie foi confirmada por taxonomista e foi confirmada a sua especificidade por *S. frugiperda*. As duas linhagens demonstraram similaridade genética em padrões de restrição para as regiões 16S e ITS1, embora a linhagem importada apresentasse qualidade superior. Os parâmetros de fecundidade demonstraram que a linhagem introduzida tem um potencial de aumento populacional maior e é intrinsecamente mais agressiva. As duas linhagens apresentaram resposta funcional tipo III, com estabilização do parasitismo a partir de 200 ovos do hospedeiro. Infere-se que a criação em laboratório de *T. remus* requer cuidados que limitem a perda do potencial para controle biológico. Avaliações subsequentes de qualidade bem como a metodologia atual de criação precisam ser revistas. O presente estudo resultou num importante aporte para auxiliar na implementação de programas de controle biológico para a lagarta-do-cartucho.

Palavras-chave: controle biológico, criação massal, lagarta-do-cartucho, controle de qualidade, tabela de vida de fertilidade, resposta funcional.

**COMPARATIVE BIOECOLOGY OF TWO *Telenomus remus* Nixon
(HYMENOPTERA: PLATYGASTRIDAE) STRAINS PARASITIZING *Spodoptera
frugiperda* (J.E. Smith) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

ABSTRACT - Mass rearing in laboratory conditions affects the activity and vigor of parasitoids and consequently their potential as biological agents. In Brazil, *Telenomus remus* was introduced in 1986 and high levels of parasitism on *Spodoptera frugiperda* were obtained in laboratory tests. However, these levels were not obtained in field conditions. Thus, to broaden the genetic bases of laboratory-maintained strains and to determine possible differences in activity and vigor, this study aimed to: (1) introduce a new strain of *T. remus* from Venezuela in Brazil; (2) compare the biology of two strains of *T. remus* (one collected in maize fields and introduced, and the other, maintained by over 600 generations in laboratory conditions) by evaluating reproductive parameters and fertility life tables, (3) compare the functional responses; (4) evaluate the quality of the strains using flight activity and emergence as criteria. The introduced species was confirmed by a taxonomist and their specificity for *S. frugiperda* was confirmed. Both strains demonstrated genetic similarity in restriction patterns for the 16S and ITS1 regions, although the imported strain showed superior quality as biological control agent. The fertility parameters showed that the introduced strain has a greater potential for population increase and is inherently more aggressive. The two strains exhibited type III functional response, with stabilization of parasitism at 200 host eggs. It is inferred that the laboratory rearing of *T. remus* requires efforts to prevent loss of biological control potential. Further evaluations of quality must be made and the current mass rearing methodology should be re-designed. This study resulted in an important contribution that could aid the implementation of biological control programs for fall armyworm.

Keywords: biological control, mass rearing, fall armyworm, quality control, fertility life table, functional response.

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

O controle biológico surgiu como uma alternativa ao uso dos pesticidas químicos, ante a necessidade de manter as pragas em níveis menores daqueles que causariam danos econômicos e gerar opções de controle ecologicamente corretas, que garantam uma produção agrícola sustentável (DeBACH, 1964). Dentre os tipos, o controle biológico clássico refere-se à introdução de controladores biológicos (parasitoides, predadores e patógenos) de um país para outro. Esse tipo de controle é usualmente realizado quando os inimigos naturais de uma região não conseguem manter uma praga (quase sempre exótica) em níveis que não causem prejuízos econômicos (MORAES; SÁ; TAMBASCO, 1996). O objetivo deste tipo de controle é o estabelecimento do inimigo natural no campo para o posterior aumento da população e controle eficiente da praga.

Telenomus remus Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) é um parasitoide de ovos, que foi introduzido nas Américas e no Caribe como parte de programas de controle biológico clássico para o controle de espécies do gênero *Spodoptera* (CAVE, 2000). Vários estudos têm demonstrado sua alta capacidade de parasitismo em campo e laboratório, bem como a viabilidade de seu uso em programas de manejo integrado de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do milho (SCHWARTZ; GERLING, 1974; WOJCIK; WHITCOMB; HABECH, 1976; JOSHI; SITARAMAIAH; RAMAPRASAD, 1982; HERNÁNDEZ; FERRER; LINARES, 1989; BUENO et al., 2010).

No Brasil, depois da sua introdução em meados década de 1980 (PEDRASI; PARRA, 1986), o parasitoide tem permanecido sob condições de criação massal que já atingiu cerca de 600 gerações em laboratório até janeiro de 2013. Apesar da eficácia deste parasitoide, ainda apesar de algumas tentativas, não foi estabelecido com sucesso um programa de controle biológico para *S. frugiperda* com *T. remus* e tampouco foram confirmados no campo os níveis de parasitismo obtidos em laboratório (FIGUEIREDO; CRUZ; DELLA LUCIA, 1999; BUENO et al., 2010). Assim, a hipótese do presente estudo está relacionada com a perda de vigor

e atividade do parasitoide em laboratório devido a eventos de deriva genética, endogamia e seleção, que poderiam explicar os baixos níveis de parasitismo obtidos a campo no Brasil. Deste modo, visando determinar possíveis diferenças na atividade e vigor, bem como ampliar a base genética das linhagens mantidas em laboratório objetivou-se comparar aspectos bioecológicos de duas linhagens de *T. remus*: uma coletada a campo e recém introduzida no Brasil e outra criada por várias gerações em laboratório, parasitando ovos de *S. frugiperda*.

2. Revisão de Literatura

2.1 Aspectos biológicos e importância de *Spodoptera frugiperda*

A lagarta-do-cartucho, *S. frugiperda*, é uma espécie-praga que ocorre em todo o continente americano. É conhecida mundialmente por atacar as culturas de milho, sorgo, arroz, cana-de-açúcar, pastagens e algodão, nas quais provoca enormes prejuízos, embora possa ocorrer também em mais de 80 espécies hospedeiras (WOJCIK; WHITCOMB; HABECH, 1976; GARCÍA-ROA et al., 2002). No milho é considerada praga chave e pode ocasionar prejuízos superiores a US\$ 400 milhões anualmente no Brasil (CRUZ, 2008). Isto decorre porque esta praga pode levar à redução de 15 a 50% na produção (BESERRA; DIAS; PARRA, 2002; CRUZ et al., 2010), dependendo do estágio de desenvolvimento da cultura.

As fêmeas de *S. frugiperda* ovipositam em camadas sobrepostas, geralmente na face abaxial das folhas. Uma fêmea oviposita em média 100 ovos por postura, logo na primeira folha cotiledonar e pode colocar até 1.500 a 2.000 ovos durante a sua vida. Os ovos medem 0,4 mm x 0,3 mm, a coloração é variável, de esverdeada no início do desenvolvimento, escurecendo gradualmente até atingir um tom de marrom escuro. Esta fase tem duração de aproximadamente três dias a 25°C (SPARKS, 1979). As massas são cobertas por escamas provenientes da região posterior do abdome, que atuam como proteção dos fatores ambientais e alguns inimigos naturais (CAVE, 2000)

Após a eclosão, as larvas começam a se alimentar raspando o parênquima foliar. No segundo ínstar, as larvas demonstram um comportamento de dispersão na busca de novas plantas. Por isso, a partir de poucas massas de ovos em campo obtém-se facilmente uma infestação praticamente generalizada (MURILLO, 1991). Durante a fase larval, os insetos permanecem dentro do cartucho da planta alimentando-se das folhas. Devido ao hábito canibal da espécie é comum encontrar apenas uma larva por cartucho (MURILLO, 1991). No sexto ínstar, a larva abandona a planta e penetra no solo para empupar (BESERRA; DIAS; PARRA, 2002). A fase da pupa tem duração que pode variar de 7 a 37 dias, de acordo as condições ambientais. As mariposas têm longevidade média de 12 dias (SPARKS, 1979). A

oviposição ocorre a partir do terceiro dia após da emergência dos adultos e os insetos podem infestar o milho a partir da emergência das plantas (MURILLO, 1991).

2.2 Aspectos bioecológicos de *Telenomus remus*

A biologia e ecologia de *T. remus* foram estudadas por Gerling (1972), Schwartz e Gerling (1974) e Rojas e García-Roa (1995). O parasitoide tem preferência por ovos de noctuídeos (Lepidoptera), embora possa também parasitar ovos de uma espécie de Pyralidae e uma de Arctiidae (CAVE, 2000).

Dependendo da temperatura, o estágio de ovo pode têm uma duração de 10-20 horas. As larvas alimentam-se dos tecidos do hospedeiro durante 5-8 dias até entrar na etapa de pré-pupa. A fase de pupa ocorre dentro do ovo (hospedeiro) durante 5-6 dias. Nas últimas 48 horas deste estágio as fêmeas já são atrativas para os machos emergidos (SCHWARTZ; GERLING, 1974; CAVE, 2000).

Os adultos de *T. remus* possuem coloração preto brilhante e medem cerca 0,5-0,6mm de comprimento. Os fêmures e tíbias são escuros nas fêmeas e claros nos machos. As antenas, nas fêmeas são do tipo clavada, enquanto que nos machos são do tipo filiforme (CAVE, 2000), o que permite a separação dos sexos.

Após 10 dias, em média, os machos emergem e esperam sobre o hospedeiro a emergência das fêmeas que ocorre, geralmente, após 24 horas de acordo com Schwartz e Gerling (1974) e Cave (2000), sob condições controladas ($25\pm 1^{\circ}\text{C}$, 60-67% de umidade relativa). Emergidas as fêmeas, a cópula ocorre imediatamente e tem uma duração em média de 5-10 segundos. Depois do término da cópula, os machos perdem a sua atração pelas fêmeas, as quais iniciam a busca imediata do hospedeiro para ovipositar (SCHWARTZ; GERLING, 1974).

O processo de oviposição começa com a detecção dos ovos do hospedeiro pela fêmea, que é reconhecido mediante o tamborilamento (“*drumming*”) das antenas sobre estes. Em seguida, a fêmea pousa sobre os ovos e introduz o ovipositor. A emergência de machos é maior, quando a razão de parasitoides é maior do que dos hospedeiros (SCHWARTZ; GERLING, 1974). Ressalta-se que *T. remus* apresenta partenogênese arrenótoca, fenômeno estudado por Rojas e

García-Roa (1995) que, ao observar uma progênie de 15 fêmeas virgens, verificaram a emergência exclusiva de machos.

De acordo com Morales et al. (2000), uma fêmea mantida a temperatura de $25\pm 1^\circ\text{C}$ parasita nas primeiras 24 horas, em média, cerca de 82 ovos de *Spodoptera* sp. e pode produzir até 270 descendentes. A fêmea apenas deposita um único ovo no ovo do hospedeiro e pode ovipositar em todos os ovos de uma postura, mesmo que estejam agrupados em camadas como é o caso de posturas de *Spodoptera* spp. Esta característica dá-lhes vantagens sobre espécies de *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) já que estas só parasitam os ovos que estão expostos na postura (WOJCIK; WHITCOMB; HABECH, 1976). Este fato também foi observado por Carneiro, Fernandes e Cruz (2009) que, ao colocar fêmeas de *T. remus* e *Trichogramma pretiosum* juntas sobre a mesma postura de *S. frugiperda*, verificaram que houve predomínio da progênie de *T. remus*.

2.3 Introdução de *T. remus* para o controle de *Spodoptera* spp. no mundo

Originário da Nova Guiné, *T. remus* foi introduzido na Índia e Israel, bem como em algumas regiões do Caribe e América para o controle do complexo *Spodoptera*. No Brasil, este parasitoide foi introduzido em 1986 pelo Dr. F. D. Bennett (*Commonwealth Institute of Biological Control* - CIBC) (PEDRASI; PARRA, 1986).

Na Florida, EUA, a capacidade de parasitismo de *T. remus* foi avaliada sob condições de laboratório por Wojcik, Whitcomb e Habech (1976) que obtiveram 80-100% de parasitismo em ovos de *S. frugiperda*. Níveis elevados de parasitismo em laboratório também foram observados em estudos semelhantes na Colômbia (GARCÍA-ROA et al., 2002), Venezuela (MORALES et al. 2000) e Brasil (BUENO et al., 2010).

No campo, na Venezuela, a liberação massal de *T. remus* atingiu níveis próximos de 100% de parasitismo (HERNÁNDEZ; FERRER; LINARES, 1989; FERRER, 2001). Como isso, González e Zocco (1996) elaboraram um programa de liberação deste parasitoide durante quatro anos, que permitiu eliminar a aplicação de inseticidas para controle da lagarta-do-cartucho na cultura do milho.

Atualmente *T. remus* vem sendo criado massalmente com fins comerciais ou propostas experimentais em sete países de America Latina. Insetários privados na Venezuela e na Colômbia produzem o parasitoide com fins comerciais e de pesquisa. Laboratórios públicos em Honduras, República Dominicana, Peru, Bolívia e Cuba produzem pequenas quantidades para liberações experimentais (CAVE, 2000). Um breve histórico da introdução de *T. remus* e experiências no laboratório e em campo no mundo é apresentado na Quadro 1.

Quadro 1. Breve histórico da introdução e liberação de *T. remus* no mundo para o controle de *Spodoptera* spp.

País de introdução e ano	Introduzido de	Praga alvo (Hospedeiro)	Comentários	Referência
Índia: (CIBC), Indian Station, 1963	Nova Guiné	<i>S. litura</i> Fabricius	O parasitoide foi recuperado do campo e estabelecido com sucesso. Culturas: Tabaco, mamão, repolho, alface e couve-flor	Joshi, Sitaramaiah e Ramaprasad (1982); Singh (2004)
Israel, 1969	Índia (CIBC)	<i>S. littoralis</i> Boisd	Não se estabeleceu	Gerling (1972); Schwartz e Gerling (1974)
Samoa, década de 1960	Índia (CIBC)	<i>S. litura</i>	As liberações com outros dois parasitoides e um predador reduziram a incidência de <i>S. litura</i> em 60% em culturas de batata. Culturas: batata	Cave (2000)
Barbados, 1968	Índia (CIBC) e Pakistan	<i>S. frugiperda</i>	Estabelecido e expandido com sucesso. Em zonas onde não havia parasitoides importantes. Considerado um agente importante na redução das populações de <i>Spodoptera</i> . Taxas de parasitismo até 80%	Yaseen, Bennett e Barrow (1981); Cock (1985)
Trinidad e Tobago, entre 1976 e 1982	Barbados	<i>Spodoptera</i> spp. e <i>Heliothis</i> spp.	Fizeram-se recuperações em curto prazo mais não há certeza de que foi estabelecido permanentemente	Yaseen, Bennett e Barrow (1981),
Montserrat, 1973	Índia (CIBC)	<i>Spodoptera</i> spp.	Estabelecimento e recuperação com sucesso	Yaseen, Bennett e Barrow (1981); Cock (1985)
St Kitts, Bahamas, Guiana e Suriname, década de 1970	Trinidad (CIBC)	<i>Spodoptera</i> spp.	Estabelecimento e recuperação com sucesso	Yaseen, Bennett e Barrow (1981); Cock (1985)

Quadro 1. Continuação

Antiga, Dominica, St Vincent, Bermuda, década de 1970	Trinidad (CIBC)	<i>Spodoptera</i> spp.	Não se estabeleceu	Yaseen, Bennett e Barrow (1981); Cock (1985)
Estados Unidos, entre 1974 e 1975	Sarawak via Trinidad (CIBC)	<i>Spodoptera</i> spp.	Não teve evidência do estabelecimento. O parasitismo não ultrapassou 43%. Culturas: Milho e sorgo	Wojcik, Whitcomb e Habeck, (1976); Cave (2000)
Nicarágua e Salvador, 1976	Trinidad (CIBC)	<i>S. frugiperda</i>	Não têm referências de recuperações posteriores ou estabelecimento	Hernández, Ferrer e Linares (1989); Cave (2000)
Honduras, 1990		<i>S. frugiperda</i>	Apresentou-se menor infestação da praga nas parcelas onde foi liberado o parasitoide. Culturas: Milho, mamão e sorgo.	Cave (2000)
Venezuela, entre 1979 e 1986	Trinidad (CIBC)	<i>S. frugiperda</i>	Estabeleceu-se com sucesso, foi recuperado do campo para continuar a criação. Registrou-se cerca de 100% de parasitismo. Hoje, fazem-se liberações comerciais levando a 50% de redução nos custos da produção. Atualmente a setor privada colabora com ONGs e cooperativas de agricultores para promover cria de <i>T. remus</i> em pequenas fazendas para o uso local. Culturas: milho, sorgo	Hernández, Ferrer e Linares (1989); Ferrer (2001); González e Zocco (1996)
Colômbia, 1994	Venezuela	<i>S. frugiperda</i>	Obteve-se 50-90% de controle em campo e 80% em laboratório. Pode-se reduzir o dano exercido pela praga em mais de 60%. Foi detectado em 1992 ocorrendo naturalmente na região leste do país.	Rojas e García-Roa (1995); Siabato (1995); García-Roa et al. (2002)

Quadro 1. Continuação

			Hoje, a tecnologia de controle biológico para <i>Spodoptera</i> em milho no Valle del Cauca baseia-se em liberações inundativas da espécie.
			Culturas: milho, soja, sorgo, arroz e algodão.
Brasil, 1986	Trinidad (CIBC)	<i>S. frugiperda</i>	Ainda não foi estabelecido um programa de controle biológico utilizando este parasitoide. Não há registro que o parasitoide foi recuperado após liberações a campo. Vem sendo estudado pela UNESP/FCAV, USP/ESALQ, Universidade Federal de Viçosa e Embrapa Milho e Sorgo. Culturas: Milho e sorgo
			Pedrazi e Parra (1986); Carneiro et al. (2010); Bueno et al. (2010); Figueiredo, Della Lucia e Cruz (2002); Menezes Netto (2010)

2.4 Procedimentos para importações de organismos exóticos e processos quarentenários

O interesse pela utilização do controle biológico clássico tem crescido mundialmente como uma opção aos pesticidas químicos no combate às pragas agrícolas, embora as introduções de inimigos naturais possam também apresentar riscos ecológicos (MORAES; SÁ; TAMBASCO, 1996). As espécies exóticas são atualmente consideradas uma das principais ameaças para a conservação das espécies nativas. Assim, ao mesmo tempo que há aumento pela demanda no uso de inimigos naturais, aumentam também as preocupações relacionadas com a introdução de espécies exóticas devido à possibilidade delas causarem efeitos indesejáveis no novo ambiente (SÁ; NARDO; TAMBASCO 2002). Às vezes, esses organismos benéficos podem ampliar a gama de hospedeiros na nova região provocando desequilíbrios ecológicos tais como afetar outros organismos benéficos ou plantas cultivadas (MORAES; SÁ; TAMBASCO, 1996)

Para evitar esses efeitos de espécies introduzidas voluntariamente, os países possuem legislações que determinam os processos no intercâmbio de organismos exóticos. No Brasil, a legislação sobre a introdução de agentes de controle biológico é fundamentada no Decreto Presidencial nº 24.114, de 12 de abril de 1934, que estabeleceu o “Regulamento de Defesa Sanitária Vegetal”, devidamente aprovado pelo Ministério da Agricultura e do Abastecimento (atualmente Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA). Este regulamento estabelece as normas sobre o que é permitido importar no país, os processos de introdução, os documentos necessários e os procedimentos a serem adaptados (MORAES; SÁ; TAMBASCO, 1996).

Do mesmo modo, foi credenciado e aprovado pelo MAPA, um laboratório de quarentena de organismos úteis para controle biológico de pragas e outros na Embrapa Meio Ambiente, em Jaguariúna, SP, por meio da Portaria nº 106, de 14 de novembro de 1991. Assim, o Laboratório de Quarentena “Costa Lima” é o órgão que desempenha as atividades relativas às importações e exportações de agentes de controle biológico no Brasil (MORAES; SÁ; TAMBASCO, 1996; SÁ; NARDO; TAMBASCO, 2002).

Os documentos e procedimentos necessários para realizar introduções de organismos exóticos no país são resumidos a continuação e podem ser consultados em detalhe em Moraes, Sá e Tambasco (1996) e Sá et al. (2000). Em resumo, estes são os principais procedimentos, conforme Sá, Nardo e Tambasco (2002):

1. Avaliação técnica dos pedidos de importação.
2. Emissão da permissão de importação.
3. Processamento dos organismos em quarentena:
 - 3.1 Separação de contaminantes.
 - 3.2 Identificação dos organismos.
 - 3.3 Efeitos indiretos dos organismos
 - 3.4 Liberação dos organismos.
 - 3.5 Acompanhamento dos organismos no campo

2.5 Criação massal: efeitos sobre a qualidade dos inimigos naturais

A fim de suprir a demanda de inimigos naturais para o controle de pragas, laboratórios de criação em larga escala têm como principal objetivo a produção de grande número de agentes de controle biológico. Todavia, sabe-se que a criação massal em laboratório por longo tempo afeta a atividade e vigor de parasitoides e, conseqüentemente, o controle biológico (van LENTEREN, 2003).

Estudos realizados com *Trichogramma chilonis* Ishii (Hymenoptera: Trichogrammatidae) por Nagarkatti e Nagaraja (1978) demonstraram que a longevidade, fertilidade e fecundidade das linhagens selvagens são maiores que nas linhagens criadas em laboratório por cerca de 200 gerações. Ainda, segundo Baitha (2005), a taxa de crescimento populacional também é maior. A criação de sucessivas gerações pode afetar a capacidade de localização, parasitismo e emergência dos parasitoides (PRATISSOLI et al., 2004). Dutton e Bigler (1995) observaram diminuição na capacidade de voo ao avaliar duas linhagens de *T. brassicae* Bezdenko criadas por duas e 39 gerações sobre *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). A criação de inimigos naturais por muitas gerações

em condições constantes pode comprometer a sua tolerância às condições naturais e ocasionar a perda da preferência pelo hospedeiro (SMITH, 1996).

Assim, a perda de atividade dos indivíduos produzidos em laboratório pode afetar o desempenho desejado no campo e comprometer o controle biológico. Isso faz com que os programas de controle de qualidade sejam uma necessidade dentro dos sistemas de criação massal visando controle biológico (van LENTEREN, 2003). Na sua revisão de controle de qualidade em criações massais de parasitoides e predadores, Prezotti e Parra (2002) descreveram os principais fatores que podem afetar o vigor e a atividade do inseto transferido do campo para o laboratório, conforme segue:

- As condições constantes oferecidas no laboratório como os fatores abióticos (luz, temperatura, vento, umidade) e bióticos (alimento, ausência de predação e parasitismo) geram uma adaptabilidade dos insetos a esses fatores estáveis, não existindo seleção para superar situações de estresse e modificação do sistema genético;
- As populações de laboratório não estão expostas à competições intraespecíficas. Além das condições que são oferecidas serem adequadas para os genótipos intermediários ou mais fracos, devido à impossibilidade de escolher outro ambiente, o que acarreta numa perda da variabilidade genética;
- Comportamentos como a eficiência de busca e outros dependentes da densidade são afetados em situações de laboratório;
- Existe baixa seleção para a cópula devido a que as fêmeas terão meios restritos de seleção de casal e escape;
- Comportamentos de dispersão, busca do hospedeiro e capacidade de voo são restringidos em condições de laboratório.

O órgão responsável pela padronização dos métodos usados para avaliar a qualidade dos inimigos naturais produzidos é a Organização Internacional de Controle Biológico (IOBC Global Working Group: Quality Control of Mass Reared Arthropods). A atual recomendação desta organização, utilizando *Trichogramma*

como modelo, é selecionar, preliminarmente, com critérios rigorosos, linhagens e espécies com base em características biológicas e comportamentais (HASSAN, 1994). Os critérios propostos para avaliar qualidade dos inimigos naturais criados massalmente são listados no Quadro 2, de acordo com van Lenteren (2003).

De acordo Prezotti e Parra (2002) o controle de qualidade deve ser realizado rigorosamente durante a seleção da população fundadora. Em ordem de complexidade, os testes indicados são: determinação da porcentagem de emergência, razão sexual, fecundidade, longevidade, duração da emergência, taxa de desenvolvimento, locomoção, aceitação do hospedeiro (natural e alternativo), adequação ao hospedeiro (natural e alternativo), tolerância à temperatura (limites térmicos), resposta funcional, capacidade de quiescência e diapausa e desempenho em semicampo e campo.

Quadro 2. Critérios para avaliação de qualidade dos inimigos naturais. Tomado de van Lenteren (2003).

CRITÉRIO	DESCRIÇÃO
Quantidade	Número de indivíduos vivos ou número de adultos emergidos durante um determinado período
Razão sexual	Porcentagem mínima de fêmeas em relação aos machos na próxima geração.
Emergência	Taxa de emergência
Fecundidade	Número de descendentes produzidos durante um determinado período.
Longevidade	Tempo de longevidade em dias.
Parasitismo	Número de hospedeiros parasitados durante determinado período.
Tamanho do adulto	Indicativo de fecundidade, longevidade e vigor. Comprimento da tibia posterior, tamanho da pupa
Atividade de voo	Associado à capacidade de parasitismo e bom desempenho. Voo de curta extensão/voo de longa extensão

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Comparar aspectos bioecológicos de duas linhagens de *T. remus* (uma coletada a campo e introduzida e outra, criada por varias gerações em laboratório) parasitando ovos de *S. frugiperda*.

3.2 Objetivos específicos

1. Avaliar a biologia das duas linhagens por meio do estudo de parâmetros reprodutivos e tabela de vida de fecundidade;
2. Comparar os tipos de resposta funcional das linhagens;
3. Comparar a qualidade da linhagem introduzida (coletada ao campo e introduzida) com a linhagem mantida no laboratório (criada por cerca de 600 gerações), utilizando-se como critério de avaliação a atividade de voo e a porcentagem de emergência;
4. Realizar a introdução ao Brasil de uma nova linhagem de *T. remus* proveniente da Venezuela.

4. Referências

- BAITHA, A. Growth rate differences of wild vs laboratory reared sugarcane adapted strains of *Trichogramma chilonis* Ishii (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Sugar Tech**, Lucknow, v. 7, n. 2-3, p. 53-56, 2005.
- BESERRA, E. B.; DIAS, C. T. S.; PARRA, J. P. Distribution and natural parasitism of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs at different phenological stages of corn. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 85, n. 4, p. 588-593, 2002.
- BUENO, R. C. O. F.; CARNEIRO, T. R.; BUENO, A. F.; PRATISSOLI, D.; FERNANDES, O. A.; SILVA-VIEIRA, S. Parasitism capacity of *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) on *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) eggs. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 53, n. 1, p. 133-139, 2010.
- CARNEIRO, R. T.; FERNANDES, O. A.; CRUZ, I.; BUENO, R. C. O. F. Functional response of *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) to *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) eggs: effect of female age. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 54, n. 4, p. 692–696, 2010.
- CARNEIRO T. R.; FERNANDES A. O.; CRUZ, I. Influência da competição intra-específica entre fêmeas e da ausência de hospedeiro no parasitismo de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera, Scelionidae) sobre ovos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 53, p. 482-486, 2009.
- CAVE, R. D. Biology, ecology and use in pest management of *Telenomus remus*. **Biocontrol News and Information**, v.21, n.1, p.21-26, 2000.
- COCK, M. J. W. **A Review of Biological Control of Pests in the Commonwealth Caribbean and Bermuda up to 1982**. London: Commonwealth Institute of Biological Control: CIBC, 1985. 226p. (Technical Communication No.9).
- CRUZ, I. Manejo de pragas. In: CRUZ, J. C.; KARAM, D.; MONTEIRO, M. A.; MAGALHÃES, P. C. (Eds). **A cultura do milho**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. p. 303-362.

CRUZ, J. C.; DA SILVA, G. H.; PEREIRA, I. A.; NETO, M. M. G.; MAGALHÃES, P. C. Caracterização do cultivo de milho safrinha de alta produtividade em 2008 e 2009. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 9, n. 2, p. 177-188, 2010.

DeBACH, P. The scope of biological control. In: _____ (Ed). **Biological control of insect pests and weeds**. New York: Reinhold Pub, 1964. p. 2-20.

DUTTON A.; BIGLER F. Flight activity assessment of the egg parasitoid *Trichogramma brassicae* (Hym.: Trichogrammatidae) in laboratory and field conditions. **Entomophaga**, Bangalore, v.40, n 2, p. 223-233, 1995.

FERRER, F. Biological control of agricultural insect pests in Venezuela: advances, achievements and future perspectives. **Biocontrol News and Information**, v.22, n.3, p.67-74, 2001.

FIGUEIREDO, M. L. C.; CRUZ, I.; DELLA LUCIA, T. M. C. Controle integrado de *Spodoptera frugiperda* (Smith & Abbott) utilizando-se o parasitóide *Telenomus remus* Nixon. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n.11, 1975-1982, 1999.

FIGUEIREDO, M. L. C.; DELLA LUCIA, T. M. C.; CRUZ, I. Effect of *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) density on control of *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) egg masses upon release in a maize field. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 2, p. 12-19, 2002.

GARCÍA-ROA F.; MOSQUERA E. M. T.; VARGAS S. C. A; ROJAS A. L. Control biológico, microbiológico y físico de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), plaga del maíz y otros cultivos em Colombia. **Revista Colombiana de Entomología**, Bogotá, v. 28, p. 53-60, 2002.

GERLING, D. The development biology of *T. remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae). **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 61, p. 385-388, 1972.

GONZÁLEZ, C. E.; ZOCCO, J. L. 1996. Control integrado de *Spodoptera frugiperda* (Smith) utilizando *Telenomus remus* (Nixon) en *Zea mays* L. **Revista de Investigación Agrícola-DANAC**, San Javier, v. 1, p. 201-219, 1996.

HASSAN, S. A. Strategies to select *Trichogramma* species for use in biological control. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S. A. (Eds.). **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: CAB International, 1994. p. 55-72.

HERNÁNDEZ, D.; FERRER, F.; LINARES, B. Introducción de *Telenomus remus* Nixon (Hym.: Scelionidae) para controlar *Spodoptera frugiperda* (Lep.: Noctuidae) en Yaritagua, Venezuela. **Agronomía Tropical**, Maracay, v. 39, n. 1-3, p. 45-61, 1989.

JOSHI, B. G.; SITARAMAIAH, S.; RAMAPRASAD, G. Field observations on impact of egg parasite *Telenomus remus* [Hym.: Scelionidae] on tobacco caterpillar, *Spodoptera litura* [Lep.: Noctuidae] in tobacco nurseries in Andhra Pradesh, India. **Entomophaga**, Bangalore, v. 27, n. 3, p. 331-334, 1982.

LENTEREN, J. C. van. Need for quality control of massproduced biological control agents. . In: _____ (Ed). **Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures**, Wageningen: Wageningen University, 2003. p. 1-18.

MENEZES NETTO A. C. **Fatores naturais e *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) na mortalidade de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho**. 2010. 59f. Dissertação (Mestrado em Agronomia-Entomologia Agrícola) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2010.

MORAES, G. J. de.; SÁ. L. A. N. de.; TAMBASCO, F. J. **Legislação brasileira sobre o intercâmbio de agentes de controle biológico**. Jaguariúna: Embrapa: CNPMA, 1996. 16p. (Embrapa-CNPMA. Documentos, 3).

MORALES, J. S.; GALLARDO, J. S.; VÁSQUEZ, C.; RÍOS, Y. Patrón de emergencia, longevidad, parasitismo y proporción sexual de *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae) con relación al cogollero del maíz. **Bioagro**, Barquisimeto, v.12, n.2, p. 47-54, 2000.

MURILLO, A. Distribución, importancia y manejo del complejo *Spodoptera* en Colombia. In: SEMINARIO DE *Spodoptera frugiperda* (EL GUSANO COGOLLERO) EN SORGO, MAÍZ Y OTROS CULTIVOS, 1991, Cali. **Memorias...** Cali: 1991. p. 15-23.

NAGARKATTI, S.; NAGARAJA, H. Experimental comparison of laboratory reared vs. wild-type *Trichogramma confusum* (= *chilonis*) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) I: Fertility, fecundity and longevity. **Entomophaga**, Bangalore, v. 23, n. 2, p. 129-136, 1978.

PEDRASI T. C.; PARRA J. R. P. Técnica de criação e determinação das exigências térmicas de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera, Scelionidae). In: X Congresso Brasileiro de Entomologia, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: SEB, 1986. p. 227.

PRATISSOLI, D.; OLIVEIRA, H. N.; GONÇALVES, J.R.; ZANUNCIO, J.C.; HOLTZ, A. M. Changes in biological characteristics of *Trichogramma pretiosum* (Hym.: Trichogrammatidae) reared on eggs of *Anagasta kuehniella* (Lep.: Pyralidae) for 23 generations. **Biocontrol Science and Technology**, Abingdon, v. 14, n. 3, p 313-319, 2004.

PREZOTTI, L.; PARRA, J. R. P. Controle de qualidade em criações massais de parasitoides e predadores. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S (Eds.). **Controle Biológico no Brasil:** parasitoides e predadores. Barueri: Manole, 2002. p. 295-311.

ROJAS, L.; GARCÍA-ROA, F. Comportamiento parasítica de *Telenomus* sp. en *Spodoptera frugiperda*. **Revista Colombiana de Entomología**, Bogotá, v. 21, n. 4, p.191-197, 1995

SÁ, L. A. N. de.; de NARDO, E. A. B.; TAMBASCO, F. J. Quarentena de agentes de controle biológico. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S (Eds.). **Controle Biológico no Brasil:** parasitoides e predadores. Barueri: Manole, 2002. p. 43-70

SÁ, L. A. N. de.; LUCHINI, F.; TAMBASCO, F. J.; de NARDO, E. A. B.; MORAES, G.J. **Regimento interno e normas de funcionamento do laboratório de quarentena "Costa Lima" para o intercambio internacional de agente de controle biológico.** Jaguariuna: EMBRAPA: CNPMA, 2000. 23p. (Embrapa-CNPMA. Documentos, 22).

SCHWARTZ, A.; GERLING, D. Adult biology of *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae) under laboratory conditions. **Entomophaga**, Bangalore, v. 19, n. 4, p. 482-492, 1974.

SIABATO. Manejo biológico palicado del complejo *Spodoptera* (Lep.: Noctuidae) con el parasito *Telenomus remus* Nixon (Hym.: Scelionidae). In: CONGRESO DE LA SOCIEDAD COLOMBIANA DE ENTOMOLOGÍA, 22., Bogotá. **Resúmenes...** Bogotá: SOCOLEN, 1995. p 11.

SINGH, S, P. **Some success stories in classical biological control of agricultural pest in India.** Bangkok: Asia-Pacific Association of Agricultural Research Institutions, FAO Regional office for Asia and the Pacific, 2004. p. 62.

SMITH, S. M. Biological control with *Trichogramma*: advances, successes and potential of their use. **Annual Review Entomology**, Palo Alto, v.41, p. 375-406, 1996.

SPARKS, A. N. A review of the biology of the fall armyworm. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 62, n .2, p. 82-87, 1979.

WOJCIK, B.; WHITCOMB, W. H.; HABECH, O. H. Host range testing of *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 59, n. 2, p. 195-198, 1976.

YASEEN, M.; BENNETT, F. D; BARROW, R. M. Introduction of exotic parasites for control of *Spodoptera frugiperda* in Trinidad, the eastern Caribbean and Latin America. In BRATHWAITE, C. W. D.; POLLARD, G. V.(eds.) **Urgent plant pest and disease problems in the Caribbean.** Kingston: IICA Misc. Publ, 1981. p. 161-171.

CAPÍTULO 2 - INTRODUÇÃO DE UMA LINHAGEM DE *Telenomus remus* Nixon (HYMENOPTERA: PLATYGASTRIDAE) PARA O CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) NO BRASIL

RESUMO – A criação massal no laboratório afeta a atividade e o vigor dos parasitoides e, conseqüentemente, o controle biológico. No Brasil, *Telenomus remus* foi introduzido em 1986 e confirmou-se altos níveis de parasitismo em *Spodoptera frugiperda* em testes de laboratório. Todavia, resultados recentes não confirmam esses níveis a campo. Assim, visando ampliar a base genética das linhagens mantidas em laboratório, o presente estudo objetivou realizar a introdução no Brasil de uma nova linhagem de *T. remus*. Análise de climogramas indicou a viabilidade do parasitoide no local de introdução. Os indivíduos importados não apresentaram nenhum tipo de contaminação, a espécie foi confirmada por taxonomista e foi confirmada a sua especificidade a *S. frugiperda*. A linhagem introduzida apresentou similaridade genética em padrões de restrição para as regiões 16S e ITS1, embora não se descarte diferenças em genes ligados à biologia ou comportamento. Estudos de campo, biologia comparada e qualidade precisam ser desenvolvidos. A linhagem introduzida resulta num importante aporte à implantação de programas de controle biológico contra lagarta-do-cartucho.

Palavras-chave: Controle biológico clássico, criação massal, especificidade hospedeira, lagarta-do-cartucho, parasitoide de ovos, variabilidade genética.

1. INTRODUÇÃO

A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), é um inseto polífago e uma das principais pragas agrícolas da América. Este inseto ataca plantas de culturas importantes como arroz, milho, sorgo, cana-de-açúcar, soja e algodão, além de ter outros hospedeiros. Esta característica facilita a dispersão, permanência e abundância das populações em campo (GARCÍA-ROA et al., 2002). No milho é uma das pragas de maior importância econômica da cultura. O dano ocorre em todos os estádios da planta e pode causar redução de 15 até 34% no rendimento de grãos, impedindo a produção de espigas comercialmente aceitáveis (BESERRA; DIAS; PARRA, 2002). Favorecido pelas condições climáticas, diversificação e disponibilidade de plantas hospedeiras o ano todo, esta praga é encontrada atualmente em praticamente todos os estados brasileiros (WAQUIL, 2007).

Como alternativa para o controle desta praga o parasitoide, nativo de Nova Guiné, *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae), foi introduzido no Caribe e América Latina já que tem alta especificidade pelo complexo *Spodoptera* (CAVE, 2000). No Brasil, esta vespa foi introduzida em meados da década de 1980 pelo Dr. F. D. Bennett (*Commonwealth Institute of Biological Control*), por meio do Departamento de Entomologia e Acarologia, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP (PEDRASI; PARRA, 1986).

A capacidade de parasitismo de *T. remus* foi avaliada sob condições de laboratório por Wojcik, Whitcomb e Habeck (1976) e Bueno et al. (2010) que obtiveram 80-100% de parasitismo em ovos de *S. frugiperda* nos EUA e Brasil, respectivamente. Níveis elevados de parasitismo no campo também foram observados particularmente na Venezuela, onde a liberação massal de *T. remus* chegou a alcançar níveis próximos de 100% de parasitismo, permitindo a eliminação da aplicação de inseticidas para *S. frugiperda* na cultura do milho (HERNÁNDEZ; FERRER; LINARES, 1989; GONZÁLEZ; ZOCCO, 1996). Entretanto, no Brasil, apesar dos resultados promissores obtidos, tentativas de se controlar *S. frugiperda* em milho utilizando-se esse parasitoide já foram realizadas, porém sem sucesso. Os

motivos desse insucesso ainda são desconhecidos (BUENO et al. 2010; VARELLA, 2012).

Assim, a presunção do presente trabalho é baseada no fato do parasitoide estar sob criação massal desde há 20 anos (CRUZ, 2013¹), o que resulta em cerca de 600 gerações. É sabido que a criação massal pode alterar as características biológicas das espécies devido às condições estáveis fornecidas no laboratório, que podem causar redução do vigor por meio de processos de endogamia, deriva genética e seleção e comprometer consequentemente o sucesso do controle biológico (van LENTEREN, 2003). Deste modo, o presente estudo objetivou realizar a introdução ao Brasil de uma nova linhagem de *T. remus* visando a obtenção de diferentes biótipos do parasitoide que permitam ampliar a base genética das linhagens mantidas em laboratório

¹Cruz, I. (Embrapa Milho e Sorgo). Comunicação pessoal, 2013.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Avaliação de climogramas

Para analisar a viabilidade de *T. remus* nas condições climáticas da região de introdução (Jaboticabal-SP, Brasil), uma comparação dos climogramas das localidades na Venezuela em que o parasitoide estabeleceu-se foi realizada.

Histórico dos dados de temperatura e umidade relativa mensais de 10 anos das localidades venezuelanas, Lara, Portuguesa e Yaritagua foram obtidos do Instituto Nacional de Investigações Agrícolas (INIA, 2011) e da estação climatológica do Departamento de Ciências Exatas da FCAV/UNESP, Jaboticabal, SP. Os climogramas foram obtidos a partir desses dados, conforme Silveira-Neto (1976).

2.2 Insetos

O parasitoide foi introduzido a partir da obtenção da permissão de importação pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (363/2011 Mapa) e recebidos no Laboratório de Quarentena “Costa Lima”, situado na Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, onde se realizaram os ensaios. A colônia foi estabelecida a partir de 650.000 indivíduos coletados em posturas de *S. frugiperda* em culturas de milho de Barquisimeto, estado de Lara, Venezuela, pela empresa Mecoivepal (*Movimiento Ecológico Cooperativo de Investigación*). Os insetos permaneceram uma geração na Mecoivepal antes da importação e seis no Laboratório de Quarentena “Costa Lima” como parte dos processos de importação. A criação foi mantida sobre o hospedeiro *S. frugiperda*, conforme Oliveira; Carneiro; Fernandes (2006).

2.3 Observação de contaminantes e identificação taxonômica

Uma amostra de 100 insetos foi tomada para avaliação microscópica de patógenos, hiperparasitos e outros contaminantes, bem como para determinação taxonômica. A avaliação microscópica foi realizada no Laboratório de

Microrganismos do Laboratório de Quarentena “Costa Lima”. A determinação taxonômica foi realizada pelo Dr. Valmir Antônio Costa, Laboratório de Controle Biológico, do Instituto Biológico, Campinas-SP. Depois da determinação taxonômica os espécimens foram depositados e registrados na coleção *voucher* do laboratório quarentenário.

2.4 Especificidade dos organismos

Para avaliar a especificidade da linhagem introduzida, comparou-se o nível de parasitismo em ovos de *S. frugiperda*, praga alvo da introdução, e *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), importante praga da cultura da soja e que, muitas vezes, ocorre em ataques conjuntos com *S. frugiperda* (XAVIER; BUENO; BUENO, 2010). Os indivíduos de *A. gemmatalis* foram criados seguindo a metodologia proposta por Campo, Oliveira e Moscardi (1985). O ensaio foi realizado em arenas com e sem chance de escolha com 20 repetições (fêmeas). Conformaram-se três tratamentos nos quais foram oferecidas posturas de 100 ovos de cada hospedeiro: T1: *S. frugiperda* + *A. gemmatalis*; T2: *A. gemmatalis*; T3: *S. frugiperda*.

Para obter posturas de 100 ovos de *S. frugiperda* seguiu-se a metodologia descrita por Beserra e Parra (2005), em que o número de camadas é multiplicado pelo número de ovos na camada superior. Os ovos adjacentes são adicionados a este total. Os ovos restantes foram retirados com um pincel fino e macio. Já para a obtenção de posturas com 100 ovos de *A. gemmatalis*, ovos individuais foram cuidadosamente fixados usando um pincel fino e cola não-tóxica solúvel (Colapel) num pedaço de papel sulfite.

Cada arena foi composta por uma placa de Petri (1,5 cm de altura x 9 cm de diâm.) e um círculo de papel sulfite (1,5 cm de altura x 9 cm de diâm.). Nesse círculo traçou-se uma linha ao longo do diâmetro e as posturas foram coladas nos extremos dessa linha. O círculo com as posturas foi colocado dentro da placa de Petri. No centro da arena liberou-se uma fêmea da linhagem introduzida de *T. remus* de 24h de idade, acasalada, alimentada e sem experiência de oviposição. As placas de Petri foram vedadas com papel filme e mantidas em câmara climatizada ($25\pm 1^{\circ}\text{C}$,

70±10% de umidade relativa e 12:12 L:E). O parasitismo foi permitido por 24h. Depois disso, as fêmeas foram retiradas e as posturas foram colocadas em tubos de ensaio (8 cm x 2 cm diam.) sob as mesmas condições até a emergência.

Em cada hospedeiro foram avaliados os seguintes parâmetros biológicos: duração do período ovo-adulto; porcentagem de parasitismo e razão sexual. A contagem dos adultos, bem como a separação por sexo foi realizada sob microscópio estereoscópico.

2.5 Testes moleculares

Testes moleculares foram realizados com a linhagem introduzida (LV) e a linhagem mantida em laboratório (LB) a fim de comparar a diversidade genética das colônias. Os testes foram realizados no laboratório de Biossistemática, Biologia e Ecologia Molecular de Neurópteros, da FCAV/UNESP. Foram extraídos, amplificados e analisados fragmentos de DNA mitocondrial dos genes Citocromo Oxidase, subunidade I (COI) e 16S, e das regiões intergênicas do RNA ribossomal ITS1 e ITS2 por ser fragmentos frequentemente utilizados na análise de variabilidade genética entre populações (WEEKERS; JONCKHEERE; DUMONT, 2001; HARTL; CLARK, 2010).

2.5.1 Extração

A extração foi realizada com as fêmeas das duas linhagens, que foram mortas em álcool absoluto. Como não havia informação sobre o número mínimo de insetos para garantir a extração, comparou-se a técnica utilizando uma fêmea por repetição (n=10), 10 fêmeas por repetição (n=5), 25 fêmeas por repetição (n=3) e 50 fêmeas por repetição (n=3). A extração foi realizada por meio do “Wizard Genomic DNA Purification Kit” (Promega), seguindo-se o protocolo fornecido pelo fabricante. Depois da extração, realizou-se a quantificação do DNA obtido, através do espectrofotômetro Nano Drop 2000 (Thermo Fisher Scientific Inc.) para analisar se a concentração era adequada para realizar a amplificação dos fragmentos.

2.5.2 Obtenção dos fragmentos de DNA

As regiões COI, 16S, ITS1 e ITS2 foram amplificadas por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR). As reações de PCR foram realizadas em termociclador *Mastercycler®* (Eppendorf) em um volume final de 25µL, sendo 12,5µL de *GoTaq® Green Master Mix 2x* (Promega), 0,2 a 0,6µM de cada *primer* e ~40ng de DNA total. Os produtos foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1% e corados com brometo de etídio a fim de confirmar a amplificação.

Para amplificar o gene da COI foram utilizados os iniciadores C1-J-2183 (5' CAACATTTATTTTGATTTTTTGG 3') e TL2-N-3014 (5' TCCATTGCACTAATCTGCCATATTA 3') (SIMON et al., 1994). A amplificação ocorreu nas seguintes condições: desnaturação inicial à 94 °C por 2 min, seguida por 35 ciclos de 40s à 94 °C, 50s à 55 °C, 1min à 72 °C e uma etapa de extensão final de 72 °C por 10min.

O gene mitocondrial 16S foi amplificado utilizando-se os iniciadores LR-J-12887 (5' CCGGTTTGAAGTTCAGATCATGT 3') e SR-N-13398 (5' CRCYTGTTTAWCAAAAACAT 3') (SIMON et al., 1994). As condições para realizar a amplificação foram: desnaturação inicial à 95 °C por 3min, seguida por 5 ciclos de 15s à 92 °C, 45s à 48 °C, 2min e 30s à 62 °C, prosseguindo com 29 ciclos de 15s à 92 °C, 45s à 52 °C, 2min à 62 °C e uma etapa de extensão final de 62 °C por 7min.

As regiões intergênicas ITS1 e ITS2 foram amplificadas com os iniciadores CS249_F (5' TCGTAACAAGGTTTCCG 3') (SCHLÖTTERER; TAUTZ, 1994) e DT421_R (5' GCTGCGTTCTTCATCG 3') (WHITE et al., 1990); e TS2_F (5' TGTGAACTGCACGACACATG 3') (WHITE et al., 1990) e CS250_R (5' GTTRGTTTCTTTTCCTC 3') (SCHLÖTTERER; TAUTZ, 1994), respectivamente. As condições da reação para o ITS1 foram: 27 ciclos de 1min à 94 °C, 2min à 45 °C, 2min e 30s à 72 °C. Já para o ITS2 as condições foram: desnaturação inicial à 94 °C por 3min, seguida por 34 ciclos de 40s à 94 °C, 45s à 55 °C, 45s à 72 °C e uma etapa de extensão final de 72 °C por 5min.

2.5.3 RFLP (Polimorfismo de comprimento dos fragmentos de restrição)

Para discriminar entidades genéticas utilizou-se 11 endonucleases de restrição por meio da técnica RFLP (LUCHETTI; MANTOVANI; TRENTINI, 2005): *AluI*, *DpnI*, *DraI*, *EcoRI*, *HaeIII*, *HincII*, *NlaIII*, *MboI*, *MseI*, *MspI* e *TaqI*. As reações de digestão ocorreram segundo as recomendações do fabricante (*Invitrogen* e *Fermentas Molecular Biology*) Os produtos digeridos foram visualizados em gel de agarose 2% corado com brometo de etídio.

2.4 Análise estatística

As análises do período ovo-adulto, porcentagem de parasitismo e razão sexual nos hospedeiros foram realizadas por meio da análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey para comparações múltiplas entre médias utilizando-se o software IBM SPSS STATISTIC (2011).

3. RESULTADOS

3.1 Avaliação de climogramas

A análise dos climogramas indicou que as condições de temperatura e umidade relativa de Jaboticabal-SP nos meses relacionados com a safra do milho (período úmido) são similares às localidades venezuelanas e nos quais o parasitoide estabeleceu-se ao campo (Figura 1). Com isso, as chances de sucesso após liberação do parasitoide aumentam. Todavia, no período da 2ª. safra (safrinha) ou inverno, a temperatura e umidade relativa são inferiores àsquelas observadas nas regiões da Venezuela.

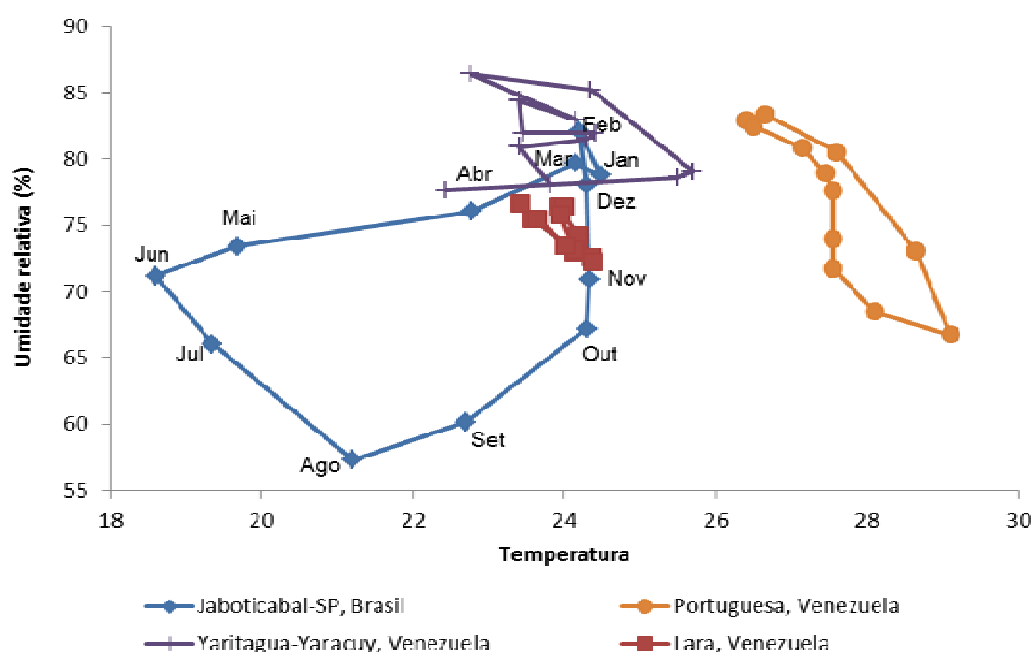


Figura 1. Climograma dos históricos de 10 anos das localidades Lara, Portuguesa Yaritagua (Venezuela) e Jaboticabal (Brasil).

3.2 Observação de contaminantes e identificação taxonômica

Com relação ao estado de pureza dos organismos recebidos, não foi observada presença de hiperparasitos, entomopatógenos, impurezas ou outros insetos praga. Quanto à determinação taxonômica, os exemplares foram confirmados como pertencentes à espécie *T. remus*.

3.3 Especificidade dos organismos

Não se observaram diferenças na duração do período ovo-adulto ($F_{1,38}=0,165$; $P=0,687$) nem na razão sexual ($F_{1,29}=0,326$; $P=0,572$) nas duas espécies de hospedeiro testadas. O período de desenvolvimento foi em média de $11,20\pm0,92$ dias em *S. frugiperda* e, $11,15\pm0,82$ dias em *A. gemmatalis*. A razão sexual observada foi em média $0,79\pm0,19$ em *S. frugiperda* e $0,78\pm0,18$ em *A. gemmatalis*.

Foi possível constatar que as fêmeas da LV tem preferência para parasitar ovos de *S. frugiperda*, pois verificou-se $80,12\pm3,69\%$ e $79,55\pm4,45\%$ nos testes com chance de escolha (dois hospedeiros disponíveis) e sem chance de escolha (apenas ovos de *S. frugiperda*). Não foi observado parasitismo de *A. gemmatalis* no teste com chance de escolha (T1) e apenas $5,6\pm1,68\%$ ovos parasitados no tratamento sem escolha (Figura 2). Assim, a LV não se reproduziu eficientemente em *A. gemmatalis* e, na presença de *S. frugiperda*, as fêmeas não aceitam aquele hospedeiro alternativo.

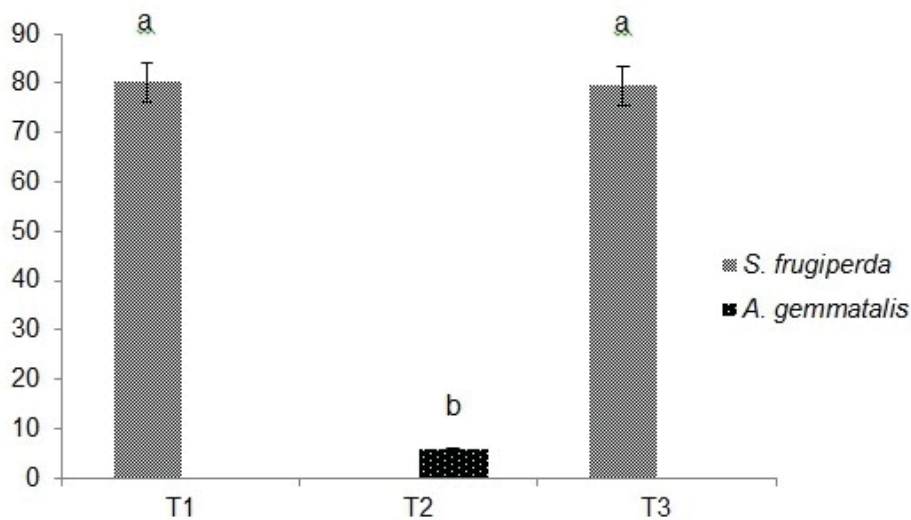


Figura 2. Porcentagem de parasitismo médio ($\pm$ DP) de *Telenomus remus* no hospedeiro natural *Spodoptera frugiperda* e no hospedeiro alternativo *Anticarsia gemmatalis*: T1= chance de escolha: *S. frugiperda* + *A. gemmatalis*; T2: *A. gemmatalis*; T3: *S. frugiperda*. (Médias seguidas pela mesma letra são não significativamente diferentes de acordo com o teste Tukey [$P \leq 0,05$]).

3.4 Testes moleculares

3.4.1 Extração

As extrações realizadas com uma e dez fêmeas resultaram em concentrações baixas de DNA (valores negativos a 4,4ng/ μ l), que não foram adequadas para amplificação dos fragmentos. Com 50 insetos a concentração foi cerca de 56,5 ng/ μ l. Entretanto, a grande quantidade de insetos não permitiu o isolamento de DNA de qualidade, o que prejudicou as reações de PCR. Já com 25 fêmeas, a concentração de DNA foi cerca de 17 ng/ μ l, e permitiu realizar as amplificações devido a sua pureza.

3.4.2 Obtenção dos fragmentos de DNA

Para as regiões COI e ITS2 não se obteve sucesso na amplificação. O gene 16S foi amplificado gerando um fragmento de aproximadamente 550 bp (Figura 3A). A região intergênica ITS1 apresentou cerca de 750 bp (Figura 3B), embora tenha

ocorrido falha em uma das amostras da linhagem brasileira, a qual apresentou menor concentração de DNA.

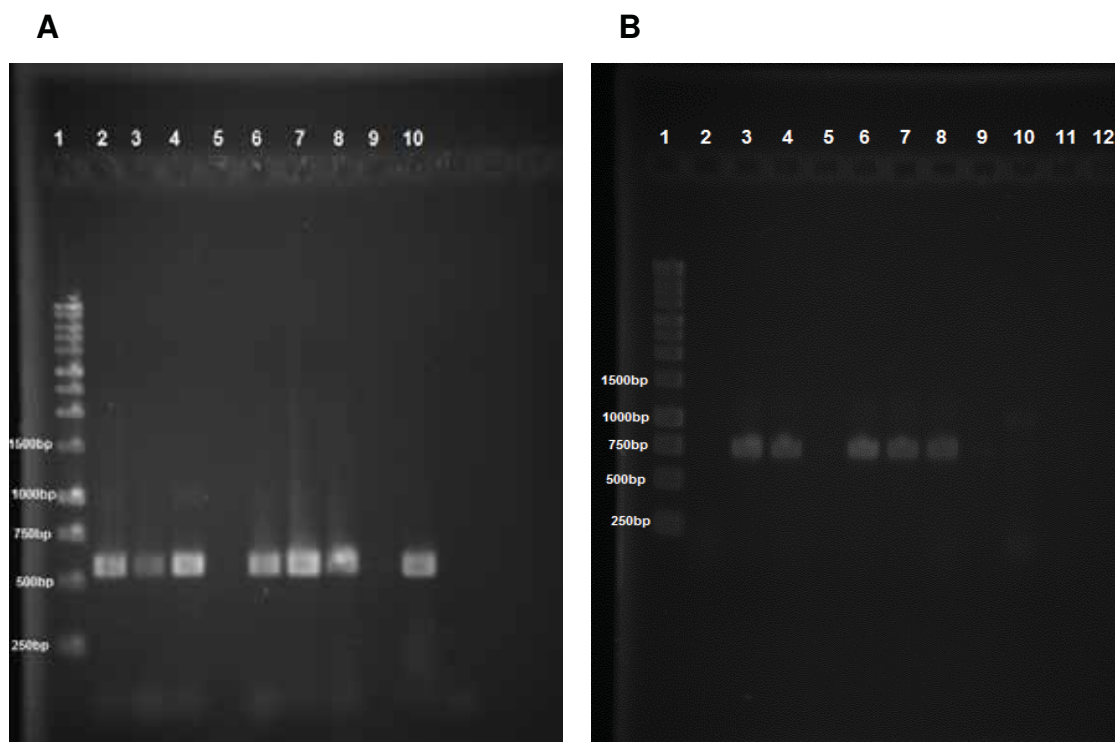


Figura 3. Amplificação dos fragmentos de DNAm_t de duas linhagens de *T. remus*. 1- Ladder 1kb, 2-4 - LB, 6-8 - LV, 9 - Controle negativo, 10 - Controle positivo. **A.** Gene 16S **B.** Região intergênica ITS1.

3.4.3 RFLP (Polimorfismo de comprimento dos fragmentos de restrição)

As digestões registraram o mesmo padrão de restrição para ambas as linhagens. Para o gene 16S as enzimas *AluI*, *DpnI*, *EcoRI*, *HaeIII*, *NlaIII*, *MspI* não apresentaram sítios de restrição. A digestão conjunta com *MboI* e *MseI* cortou o fragmento em mais de três sítios, enquanto a endonuclease *TaqI* possui dois sítios (Figura 4A). A digestão dupla de *DraI* com *HincII* mostrou três sítios de restrição (Figura 4B).

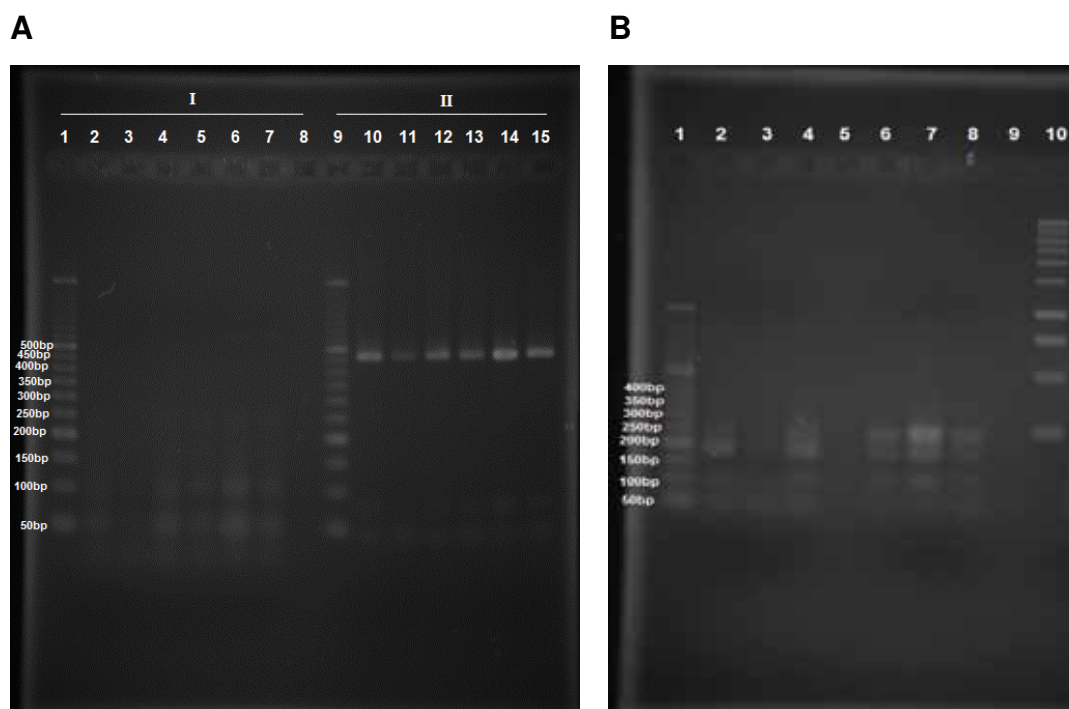


Figura 4. Digestões com endonucleases do gene 16S de duas linhagens de *T. remus*. 1-Ladder 50bp. **A.** I: *Mbol* e *Msel*, II: *TaqI*, 2-4 - LB, 5-7 - LV, 9 - Ladder 50bp, 10-12 - LB, 13-15 - LV. **B.** *DraI* e *HincII*, 2-4 - LB, 6-8 - LV.

Para a região intergênica ITS1, as enzimas *EcoRI*, *NlaIII*, *MspI* não apresentaram sítios de restrição. As digestões, dupla com as enzimas *Mbol* e *Msel* e simples com *TaqI*, apresentaram mais de dois sítios de restrição (Figura 5A) e as enzimas restantes apresentaram dois (Figura 5B e C).

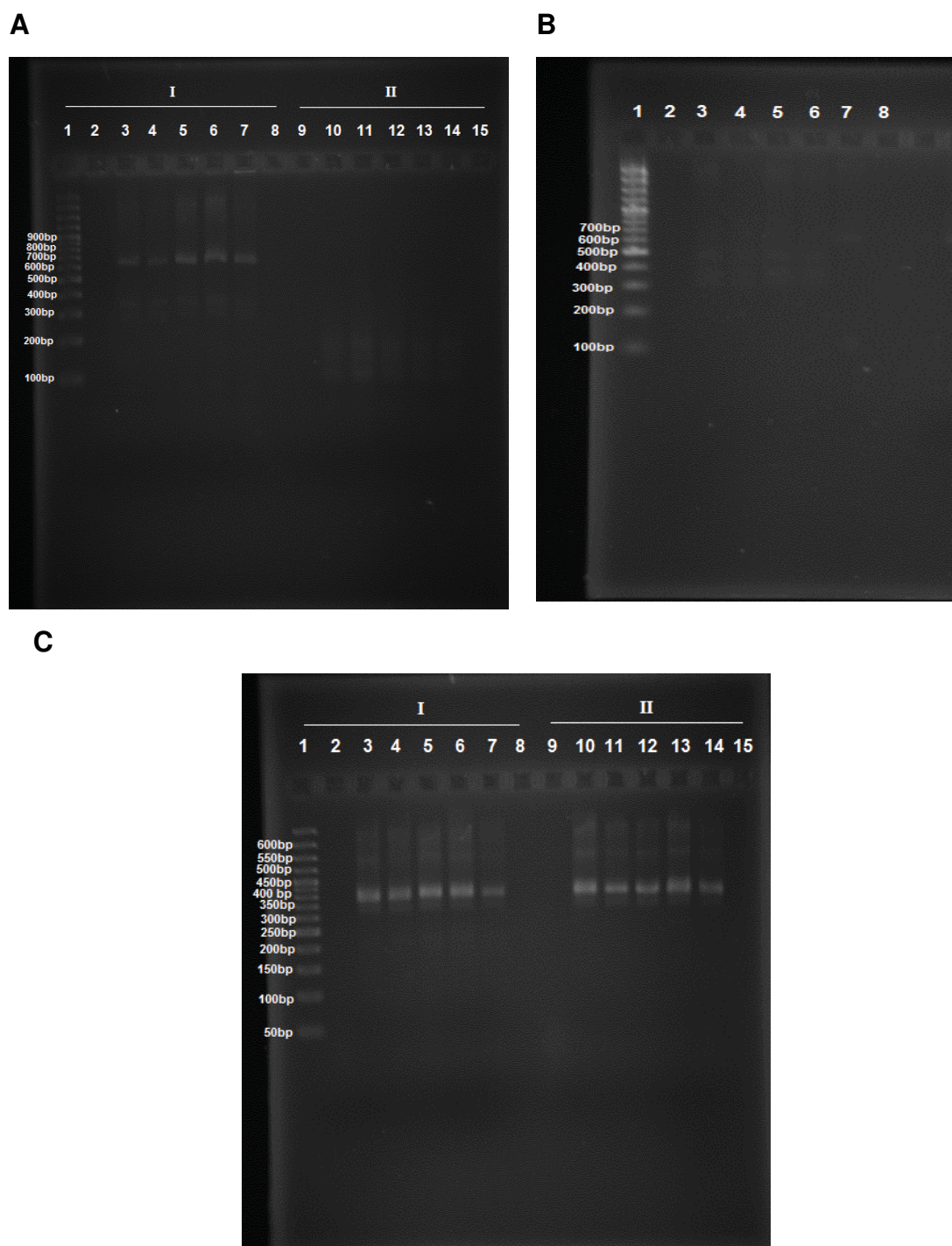


Figura 5. Digestões com endonucleases região intergênica ITS1 de duas linhagens de *T. remus*. 1-Ladder 100bp. **A** I: *MboI* e *MseI*, II: *TaqI*, 2-4 - LB, 5-7 - LV, 9 -11 - LB, 12-14 - LV. **B.** *DraI* e *HincII*, 2-4 - LB, 5-7 - LV. **C.** I: *AluI*, II: *DpnI*, 2-4 - LB, 5-7 - LV, 9 -11 - LB, 12-14 - LV.

4. DISCUSSÃO

Estudos de especificidade dos organismos permitem explorar se o inimigo natural é capaz de utilizar um organismo não-alvo como hospedeiro e assim, analisar o impacto ambiental da espécie introduzida. *T. remus* já foi observado parasitando ovos de cinco espécies diferentes de *Spodoptera* (WOJCIK; WHITCOMB; HABECK, 1976). Aliás, trabalhos anteriores comprovaram a especificidade do parasitoide a esse gênero (WOJCIK; WHITCOMB; HABECK, 1976; MARTÍNEZ- MARTÍNEZ; BERNAL, 2001; XAVIER; BUENO; BUENO, 2010).

Wojcik, Whitcomb e Habeck (1976) obtiveram apenas quatro ovos parasitados de 37 oferecidos de *A. gemmatalis*. Estes autores verificaram que *T. remus* tem preferência pelos hospedeiros em grupo e não por ovos isolados. Xavier, Bueno e Bueno (2010) observaram também baixo parasitismo de ovos de *A. gemmatalis*, além deste hospedeiro ter afetado negativamente a razão sexual e o tempo de desenvolvimento. Ainda que baixo, o parasitismo dos ovos de *A. gemmatalis* por *T. remus* comprova que a LV, na ausência do hospedeiro preferencial investe esforço reprodutivo para parasitar hospedeiro alternativo, embora *A. gemmatalis* não ofereça condições favoráveis para o desenvolvimento dos estádios imaturos de *T. remus*. Assim, na presença de *S. frugiperda*, as fêmeas do parasitoide não aceitam *A. gemmatalis*.

A taxonomia é uma etapa fundamental no processo de introdução de um inimigo natural, pois o sucesso de um programa de controle biológico depende diretamente da correta identificação da espécie (ZUCCHI, 2002). Além da determinação taxonômica, como no caso do presente trabalho, o reconhecimento do organismo introduzido em relação ao já existente no país deve ser realizado (SÁ et al., 2000). Isso pode ser por meio de técnicas moleculares que possibilitam avaliar a variabilidade genética entre as linhagens.

Nesse estudo, os padrões de restrição obtidos para as regiões 16S e ITS1 demonstram que há similaridade genética entre as linhagens. As regiões COI e ITS2 não amplificadas pode dever-se ao uso de Iniciadores universais e portanto à falta de especificidade dos iniciadores (*primers*). O fragmento 16S tem tamanho condizente com tamanhos reportados na literatura para outras espécies da família:

aproximadamente 470pb para *Baryconus* sp., *Sparsion* sp. (Platygastridae: Scelioninae) e *Inostema* sp (Platygastridae: Platygastrinae) (DOWTON; AUSTIN, 2001). Não existem relatos na literatura de amplificação da região intergênica ITS1 para *Telenomus*, nem mesmo de Platygastridae. O fragmento obtido foi comparado com outras espécies de parasitoides de ovos do gênero *Trichogramma*, embora seja maior do que o reportado na literatura, os quais variaram de 430 (CHANG; HU; SUN, 2000) a 570bp (JENG et al. 2003). A similaridade encontrada entre as duas linhagens pode estar relacionada ao período de tempo de separação das linhagens que, provavelmente, não foi suficiente para revelar mudanças evolutivas tanto para a ITS1 quanto para o 16S.

A ITS1 é uma região intergênica mais variável do que as regiões gênicas do DNA nuclear. Trata-se de uma região que não codifica proteína e acumula grande número de mutações porque não sofre efeito de seleção, o que possibilita a distinção entre táxons mais próximos filogeneticamente (WEEKERS; JONCKHEERE; DUMONT, 2001). Por outro lado, 16S é uma região do DNAm que apresenta um alto grau de conservação. As alterações sofridas nesta região necessitam de um longo período de seleção para serem fixadas nas populações. Dessa forma, é possível inferir a história filogenética a partir do DNAm (HARTL; CLARK, 2010). Assim, pode-se afirmar que as duas linhagens estão relacionadas e apresentam um ancestral comum recente. A similaridade genética poderia garantir o cruzamento das linhagens e o sucesso reprodutivo o que permitiria ampliar o *pool* gênico da espécie (LEE; TAYLOR, 1992).

Embora as regiões avaliadas não tenham relação com genes ligados ao comportamento ou respostas ambientais. Assim, não descarta-se a possibilidade de que o tempo de separação das linhagens tenha gerado efeitos nesses níveis ou que possam comprometer a eficiência de controle. Estudos de biologia comparada e qualidade das linhagens precisam ser desenvolvidos para confirmar essa afirmação.

Os resultados indicam que a introdução da LV às condições de laboratório, aparentemente, não limitaram a capacidade de adaptação. A nova linhagem obtida deverá resultar num importante aporte ao aumento da variabilidade na colônia mantida em laboratório, bem como à resolução de questões referentes aos sistemas de criação massal, visando um controle eficiente da lagarta-do-cartucho.

5. REFERÊNCIAS

BESERRA, E. B.; DIAS, C. T. S.; PARRA, J. R. P. Distribution and natural parasitism of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs at different phenological stages of corn. **Florida Entomologist**, Gainesville v. 85, n. 4, p. 588-593, 2002.

BESERRA, E. B.; PARRA, J. R. P. Impact of the number of *Spodoptera frugiperda* egg layers on parasitism by *Trichogramma atopovirilia*. **Scientia Agricola**, Piracicaba v. 62, p.:190-193, 2005.

BUENO, R. C. O. F.; CARNEIRO, T. R.; BUENO, A. F.; PRATISSOLI, D.; FERNANDES, O. A.; SILVA-VIEIRA, S. Parasitism capacity of *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) on *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) eggs. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 53, n. 1, p. 133-139, 2010.

CAMPO, C. B. H.; OLIVEIRA, E. B. de.; MOSCARDI, F. **Criação massal da lagarta da soja (*Anticarsia gemmatas*)**. EMBRAPA-Centro Nacional de Pesquisa de Soja: CNPSo, 1985. 23 p. (EMBRAPA- CNPS. Documentos 10).

CAVE, R. D. Biology, ecology and use in pest management of *Telenomus remus*. **Biocontrol News and Information**, v.21, n.1, p.21-26, 2000.

CHANG, S. H.; HU, N. T.; SUN, C. ***Trichogramma chilonis* internal transcribed spacer 1, complete sequence**. 2000. Gene Bank número de acesso AF073790.1. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AF073790.1> . Acesso em: 10 jan. 2013.

DOWTON, M.; AUSTIN, A. D.; Simultaneous analysis of 16S, 28S, COI and morphology in the Hymenoptera: Apocrita evolutionary transitions among parasitic wasps. **Biological Journal of the Linnean Society**, London, v. 74, p. 87–111, 2001.

GARCÍA-ROA F.; MOSQUERA E. M. T.; VARGAS S. C. A; ROJAS A. L. Control biológico, microbiológico y físico de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), plaga del maíz y otros cultivos em Colombia. **Revista Colombiana de Entomologia**, Bogotá, v. 28, p. 53-60, 2002.

GONZÁLEZ, C. E.; ZOCCO, J. L. Control integrado de *Spodoptera frugiperda* (Smith) utilizando *Telenomus remus* (Nixon) en *Zea mays* L. **Revista de Investigación Agrícola-DANAC**, Santiago, v. 1, p. 201-219. 1996.

HARTL, D. L.; CLARK, A. G. **Princípios de genética de populações**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 660 p.

HERNÁNDEZ, D.; FERRER, F.; LINARES, B. Introducción de *Telenomus remus* Nixon (Hym.: Scelionidae) para controlar *Spodoptera frugiperda* (Lep.: Noctuidae) en Yaritagua Venezuela. **Agronomía Tropical**, Maracay, v. 39, n. 1-3, p. 45-61, 1989.

INIA. instituto nacional de investigações agrícolas. 2011. Disponível em: <http://http://agrometeorologia.inia.gob.ve/index.php?option=com_docman&task=cat_view&gid=17&Itemid=31> Acesso em: 10 mar. 2011.

JENG, R.; SMITH, S.; WANG, Z. Y; LIU, F. H. **Molecular characterization of *Trichogramma minutum* strain isolated from *Zeiraphera canadensis* (spruce budmoth) found in eastern Canada**. 2003. Gene Bank número de acesso AY357711.1. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AY357711.1> . Acesso em: 10 jan. 2013.

LEE, S. B.; TAYLOR, J. W. Phylogeny of five fungus-like protist *Phytophthora* species, inferred from the internal transcribed spacers of Ribosomal DNA. **Molecular biology and evolution**, Chicago, v. 9, n. 4, p. 636-653, 1992.

LENTEREN, J. C. van. Need for quality control of mass produced biological control agents. . In: _____ (Ed). **Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures**, Wageningen: Wageningen University, 2003. p. 1-18.

LUCHETTI, A.; MANTOVANI, B.; TRENTINI, M. Rapid identification of non-neosomic *Tunga penetrans* and *Tunga trimamillata* (Insecta Siphonaptera) specimens through PCR-RFLP method. **Bulletin of Insectology**, Bologna, v. 58, n. 1, p. 15-18, 2005.

MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, L.; BERNAL. J. S. *Ephestia kuehniella* Zeller as a factitious host for *Telenomus remus* Nixon: Host acceptance and suitability. **Journal of Entomological Science**, Georgia, v. 37, n. 1, p.10-26, 2001.

OLIVEIRA, R. C.; CARNEIRO, T. R.; FERNANDES, O. A. Criação de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) para o controle da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). In: DE BORTOLI, S.A.; BOIÇA Jr., A.L.; OLIVEIRA, J.E.M. (Ed.). **Agentes de controle biológico: metodologias de criação, multiplicação e uso**. Jaboticabal: Funep, 2006. p.151-166.

PEDRASI T. C.; PARRA J. R. P. Técnica de criação e determinação das exigências térmicas de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera, Scelionidae). In: X Congresso Brasileiro de Entomologia, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: SEB, 1986. p. 227.

SÁ, L. A. N. de.; LUCHINI, F.; TAMBASCO, F. J.; de NARDO, E. A. B.; MORAES, G.J. **Regimento interno e normas de funcionamento do laboratório de quarentena "Costa Lima" para o intercambio internacional de agente de controle biológico**. Jaguariuna: EMBRAPA: CNPMA, 2000. 23p. (Embrapa-CNPMA. Documentos, 22).

SCHLÖTTERER C.; TAUTZ D. Chromosomal homogeneity of *Drosophila* ribosomal DNA arrays suggests intrachromosomal exchanges drive concerted evolution. **Current Biology**, London, v. 4, n. 9, p. 777-783, 1994.

SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; VILA NOVA, N, A. Manual de ecologia dos insetos. **Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"**: Piracicaba, 1976. p. 239-243.

SIMON, C.; FRATI, F.; BECKENBACH, A.; CRESPI, B.; LIU, H.; FLOOK, P. Evolution, weighting and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved Polymerase Chain Reaction primers. **Annals of the Entomological Society of America**, Collage Park, v. 87, p. 651-701, 1994.

VARELLA, A. C. **Dinâmica dos fatores de mortalidade de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho com e sem liberação de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae)** 2012. 63f. Dissertação (Mestrado em Agronomia-Entomologia Agrícola) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2012.

WAQUIL, J.M. **Manejo Fitossanitário e Ambiental: Milho transgênico *Bt* e resistência das plantas ao ataque da lagarta-do-cartucho**. 2007. Artigo em Hypertexto. Disponível em:

<http://www.infobibos.com/Artigos/2007_1/manfito/index.htm>. Acesso em: 08 de jan. 2013.

WEEKERS, P. H. H.; JONCKHEERE, J. F. DE.; DUMONT, H. J. Phylogenetic relationships inferred from ribosomal ITS sequences and biogeographic patterns in representatives of the genus *Calopteryx* (Insecta: Odonata) of the West Mediterranean and adjacent West European zone. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, San Diego, v. 20, n. 1, p.89-99, 2001.

WHITE, T. J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. W. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: INNIS, M. A.; GELFAND, D. H.; SNINSKY, J.J.; WHITE, T.J. (Eds.). **PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications**. San Diego: Academic Press, p. 315-322, 1990.

WOJCIK, B.; WHITCOMB, W. H.; HABECK, D. H. Host range testing of *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae) **The Florida Entomologist**, Florida, v. 59, n. 2, p. 195-198, 1976.

XAVIER, M. F. da C.; BUENO, R. C. O. de F.; BUENO, A. de F. Capacidade de parasitismo de *Telenomus remus* em ovos de *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda* em diferentes temperaturas. In: JORNADA ACADÊMICA DA EMBRAPA SOJA, 5., 2010, Londrina. **Resumos...** Londrina: Embrapa Soja, 2010. p. 90-92 (Embrapa Soja. Documentos, 323).

ZUCCHI, R. A. A taxonomia e o controle biológico de pragas. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S.(Eds.) **Controle Biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. Barueri: Manole, 2002. p. 17-27.

CAPÍTULO 3 - ASPECTOS BIOECOLÓGICOS DE DUAS LINHAGENS DE *Telenomus remus* Nixon (HYMENOPTERA: PLATYGASTRIDAE) SOBRE OVOS DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

RESUMO – Os parâmetros bioecológicos de duas linhagens de *Telenomus remus*, uma brasileira (criada por cerca de 600 gerações em laboratório) e uma venezuelana (coletada ao campo e introduzida ao Brasil) foram avaliados em laboratório, visando determinar possíveis diferenças na atividade e qualidade. Análises de tabelas de vida de fertilidade, experimentos de resposta funcional e teste de qualidade como, atividade de voo e a porcentagem de emergência, foram utilizados para avaliar o desempenho das linhagens sobre ovos de *Spodoptera frugiperda*. Observaram-se variações na longevidade e sobrevivência da progênie, período reprodutivo, sobrevivência dos imaturos (l_x), fertilidade específica (m_x) e a razão sexual em função da linhagem e da idade das fêmeas. Os parâmetros de fecundidade demonstraram que a linhagem venezuelana tem um potencial de aumento populacional maior e é intrinsecamente mais agressiva do que a linhagem brasileira. As duas linhagens apresentaram resposta funcional tipo III, com estabilização do parasitismo a partir de 200 ovos do hospedeiro. A linhagem venezuelana apresentou qualidade superior. Infere-se que a criação em laboratório de *T. remus* requer cuidados que limitem a perda do potencial do controle. O estudo realizado resulta numa ferramenta para avaliação da qualidade e das interações parasitoide-hospedeiro que aportam conhecimentos úteis na implantação de programas de controle biológico contra lagarta-do-cartucho.

Palavras-chave: controle biológico; controle de qualidade, lagarta-do-cartucho, tabela de vida de fertilidade, resposta funcional, tempo de busca.

1. INTRODUÇÃO

A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae), é uma das principais pragas agrícolas da América, especialmente na cultura do milho. No Brasil, os gastos do controle nessa cultura são estimados em mais de US\$ 400 milhões/ano e a principal estratégia de controle é a utilização de produtos químicos (CRUZ et al., 2010). O uso exclusivo desses produtos pode causar efeitos negativos tais como o desenvolvimento de populações resistentes e a contaminação ambiental (DIEZ-RODRIGUEZ; OMOTO, 2001). Assim, tentativas de desenvolver programas de controle biológico contra essa praga têm sido realizadas utilizando parasitoides de ovos como *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) (FIGUEIREDO; DELLA LUCIA; CRUZ, 2002; BESERRA; PARRA, 2005; CARNEIRO et al., 2010).

Originário de Nova Guiné, o parasitoide *T. remus* foi introduzido em diferentes países da América para o controle de *Spodoptera* spp. e, sob condições de laboratório, apresentou capacidade de parasitismo de 80-100% em *S. frugiperda* (CAVE, 2000). Na Colômbia e na Venezuela este parasitoide se estabeleceu em campo com sucesso causando mais de 90% de parasitismo com liberações inundativas de 5000-100000 parasitoides/ha (HERNÁNDEZ; FERRER; LINARES, 1989; GARCÍA-ROA et al., 2002). No Brasil, o parasitoide foi introduzido em meados da década de 1980 (PEDRASI; PARRA, 1986) quando altos níveis de parasitismo foram confirmados em testes de laboratório. Não obstante, os resultados a campo conduzidos em culturas de milho não têm corroborado os níveis de parasitismo obtidos em laboratório (FIGUEIREDO; CRUZ; DELLA LUCIA, 1999; BUENO et al. 2010). Isso pode estar relacionado com o fato do parasitoide estar sob criação massal desde sua introdução.

As condições de laboratório fornecidas por longo tempo podem levar as populações a eventos de deriva genética, endogamia e seleção (como efeito fundador, efeito gargalo e fixação de mutações deletérias). Assim, os insetos não sofrem modificações em função das condições naturais (climáticas, competição e pressão de seleção), mas adaptam-se a uma condição ótima de laboratório. Isso,

somado a um tamanho populacional pequeno, gera a seleção de uns poucos genótipos e conseqüentemente compromete características desejáveis na produção de inimigos naturais (van LENTEREN, 2003).

Deste modo, é importante obter e avaliar biótipos do parasitoide submetidos a diferentes pressões de seleção no tempo, para determinar possíveis diferenças na atividade e qualidade e conseqüentemente inferir sobre a sua eficiência de controle. Assim, o presente estudo objetivou (após a introdução ao Brasil de uma nova linhagem de *T. remus*): (1) avaliar a biologia de uma linhagem brasileira (criada por cerca de 600 gerações em laboratório) e uma venezuelana (coletada ao campo e introduzida), por meio do estudo de parâmetros reprodutivos e tabela de vida de fertilidade, (2) comparar os tipos de resposta funcional e; (3) comparar a qualidade utilizando-se como critério de avaliação a atividade de voo e a porcentagem de emergência.

2. MATERIAL E METODOS

2.1 Insetos

A criação do parasitoide *T. remus* e do hospedeiro *S. frugiperda* foi realizada no Laboratório de Ecologia Aplicada na FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP, Brasil. Para realizar a criação do hospedeiro, gaiolas de cloreto de polivinila (PVC) (10 cm de diâmetro e 21,5 cm de altura) revestidas em papel sulfite (substrato de oviposição) foram mantidas com 10 casais de *S. frugiperda*. Os adultos foram alimentados por meio de chumaços de algodão umedecidos com solução de água e mel a 10%. Os ovos foram retirados diariamente e colocados em copos plásticos de 100 mL contendo um cubo de 5 g de dieta artificial (KASTEN Jr; PRECETTI; PARRA, 1978) para eclosão e manutenção das larvas de primeiro instar. Os copos foram mantidos em sala climatizada a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ de umidade relativa e 12:12 L:E. No segundo instar, as larvas de *S. frugiperda* foram individualizadas para evitar o canibalismo e mantidas dessa forma até atingirem a fase de pupa. Depois, as pupas foram separadas por sexo e colocadas nas gaiolas de PVC.

Nos experimentos foram utilizadas duas linhagens do parasitoide. Uma linhagem (denominada como brasileira-LB) foi obtida da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, Brasil. Até janeiro de 2013, essa linhagem contava com 20 anos de criação massal no laboratório (Cruz, 2013²), o que resulta em cerca de 600 gerações. A outra linhagem (denominada como venezuelana-LV) foi obtida da empresa Mecoivepal (Movimiento Ecológico Cooperativo de Investigación). A colônia da LV foi estabelecida a partir da importação ao Brasil de 650.000 indivíduos coletados em posturas de *S. frugiperda* em culturas de milho de Barquisimeto, estado de Lara, Venezuela (permissão de importação 363/2011 do MAPA). Os insetos permaneceram por uma geração na Mecoivepal antes da importação e por seis no Laboratório de Quarentena “Costa Lima”, Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, Brasil, como parte do processo de introdução da nova linhagem.

Para permitir a reprodução dos parasitoides, massas de ovos de *S. frugiperda* com cerca de 150 ovos foram coladas sobre cartelas de cartolina (2 cm x 8 cm). Os

²Cruz, I. (Embrapa Milho e Sorgo). Comunicação pessoal, 2013.

ovos foram expostos aos parasitoides durante 24h. Após isso, as cartelas contendo os ovos parasitados foram colocadas em frascos de vidro 6 cm de diâmetro com pequenas gotas de mel para alimentação dos adultos após a emergência. Todos os insetos foram mantidos sob condições controladas ($25\pm 1^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ de umidade relativa e 12:12 L:E). Diariamente novas cartelas com ovos de *S. frugiperda* foram oferecidas a *T. remus*.

Para todos os ensaios os indivíduos da LV se encontravam entre a oitava à nona geração em laboratório, enquanto que os da LB superavam a 600 gerações. Os indivíduos foram separados por sexo conforme CAVE (2000).

2.2 Biologia comparada

Fêmeas de *T. remus* com até 24h de idade, acasaladas e sem experiência de parasitismo foram individualizadas em tubos de ensaio (8 cm x 2 cm diam.) contendo uma gota de mel. Posturas de *S. frugiperda* com até 24h, de idade contendo 250 ovos foram oferecidas às fêmeas durante 24h de tal maneira que cada fêmea recebeu apenas uma postura. Os tubos foram mantidos em câmara climatizada a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase 12:12 L:E. As posturas foram trocadas diariamente, até a morte das fêmeas, sendo que as posturas parasitadas foram transferidas para tubos de ensaio que foram mantidos nas mesmas condições descritas até a emergência dos parasitoides. Duas observações diárias, nos primeiros três dias, foram realizadas para retirar as lagartas recém-eclodidas evitando, assim, dano aos ovos parasitados. Foram adotadas 20 fêmeas (repetições) para cada linhagem.

Com isso foram determinados o número de ovos parasitados diariamente; porcentagem acumulada de parasitismo; número total de ovos parasitados por fêmea (fecundidade total) e longevidade das fêmeas. Para estimar o tempo de desenvolvimento as massas de ovos foram observadas diariamente anotando o tempo transcorrido entre a oviposição e a emergência dos adultos. Para avaliar a longevidade e sobrevivência dos adultos da progênie (F1), os parasitoides emergidos foram alimentados e o número de fêmeas e machos mortos foi anotado diariamente. Análises da tabela de vida foram utilizadas para estudar os parâmetros

reprodutivos das duas linhagens. Para isso, sobrevivência dos imaturos (l_x : proporção de sobreviventes durante a idade x), fertilidade específica (m_x : número de descendentes por fêmea produzidos na idade x e que originarão fêmeas) e a razão sexual em relação à idade da fêmea (x) foram calculados.

Baseando-se nas informações da tabela de vida, foram estimados os parâmetros taxa líquida de reprodução (R_0) que é a estimativa do número médio de fêmeas gerado por fêmea ao longo do período de oviposição e que chegarão na geração seguinte; tempo médio de geração (T), que representa o tempo médio entre a postura de ovos de uma geração e a postura da geração seguinte; taxa intrínseca de crescimento (r_m) que é a capacidade que tem a população em aumentar em número; taxa finita de aumento (λ) que é o fator de multiplicação de crescimento diário da população e tempo necessário para a população duplicar (Dt) (SILVEIRA-NETO et al., 1976).

2.3 Resposta funcional

Para avaliar a resposta funcional, as seguintes densidades de ovos de *S. frugiperda* foram avaliadas: 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250 e 300 ovos. Para obtenção dessas densidades seguiu-se a metodologia descrita em Beserra e Parra (2005), em que o número de camadas é multiplicado pelo número de ovos na camada superior. Os ovos adjacentes são adicionados a este total. Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com trinta fêmeas de cada linhagem (repetições) com até 24h de vida, sem experiência prévia de oviposição para cada densidade de ovo. As fêmeas foram individualizadas em tubos de vidro (8 cm x 2 cm diâmetro) contendo uma gota mel. As posturas com as diferentes densidades de ovos de *S. frugiperda* (24h de idade) foram oferecidas às fêmeas por 24h. Os tubos foram mantidos a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa $70 \pm 10\%$ e fotofase 12:12 L:E. Duas observações diárias, nos primeiros três dias, foram realizadas para retirar as lagartas recém-eclodidas evitando assim dano nos ovos parasitados. Os parasitoides emergidos foram contados e separados por sexo com auxílio de microscópio estereoscópico. O parâmetro taxa de busca (a) foi calculado dividindo o número de ovos parasitados pelo número total de ovos expostos ao parasitoide.

Para complementar o estudo da resposta funcional determinou-se a eficiência de busca e o tempo de oviposição. Para tanto, 15 fêmeas de cada linhagem foram liberadas em tubos de vidro (1,5 cm diâm.) a 3 cm de distancia de uma postura contendo 100 ovos de *S. frugiperda*. A eficiência de busca foi avaliada em função do tempo gasto pela fêmea para encontrar a postura a partir da sua liberação no tubo. Logo depois, o comportamento parasítico foi observado por 10 min de acordo com Vet et al. (1983), durante o qual avaliou-se o tempo gasto na oviposição.

2.4 Controle de qualidade

Para avaliar a qualidade das linhagens utilizou-se como critério a atividade de voo e a porcentagem de emergência. Adotou-se delineamento inteiramente casualizado com 10 repetições por cada linhagem e os indivíduos avaliados encontravam-se na décima geração. Cada repetição recebeu 100 ovos previamente parasitados. Para isso, posturas de *S. frugiperda* com até 24h de idade foram oferecidas a duas fêmeas de *T. remus* em tubos de vidro (8 cm x 2 cm diam.) recém emergidas, acasaladas e alimentadas. Os tubos foram mantidos em câmara climatizada ($25\pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase 12:12 L:E).

Foram utilizadas unidades-teste, semelhantes ao modelo ESALQ desenvolvido por Prezotti et al. (2002). Estas unidades consistem em um cilindro de PVC (10 cm de diâm. x 21,5 cm de altura), pintado internamente com tinta acrílica preta. A abertura superior do cilindro foi vedada com uma tampa circular de armadilha amarela adesiva (Biotrap®) e fita adesiva transparente. A tampa continha com um orifício no centro da armadilha amarela adesiva para permitir a entrada da luz já que o inseto é fototrópico positivo (Figura 1A). O fundo do cilindro foi vedado com plástico preto e papel jornal ajustado por uma placa plástica redonda (Figura 1B). As bordas do plástico e do papel jornal que estavam na parte externa da sobranças foram fixadas firmemente por meio de banda elástica para evitar a fuga dos parasitóides. (Figura 1C). Tiras de armadilha amarela adesiva de 0,5 cm foram coladas a 3,5 cm do extremo inferior do modelo na parede interna, compondo uma barreira adesiva para os parasitoides que eventualmente pudessem caminhar e atingir a armadilha adesiva na parte superior.

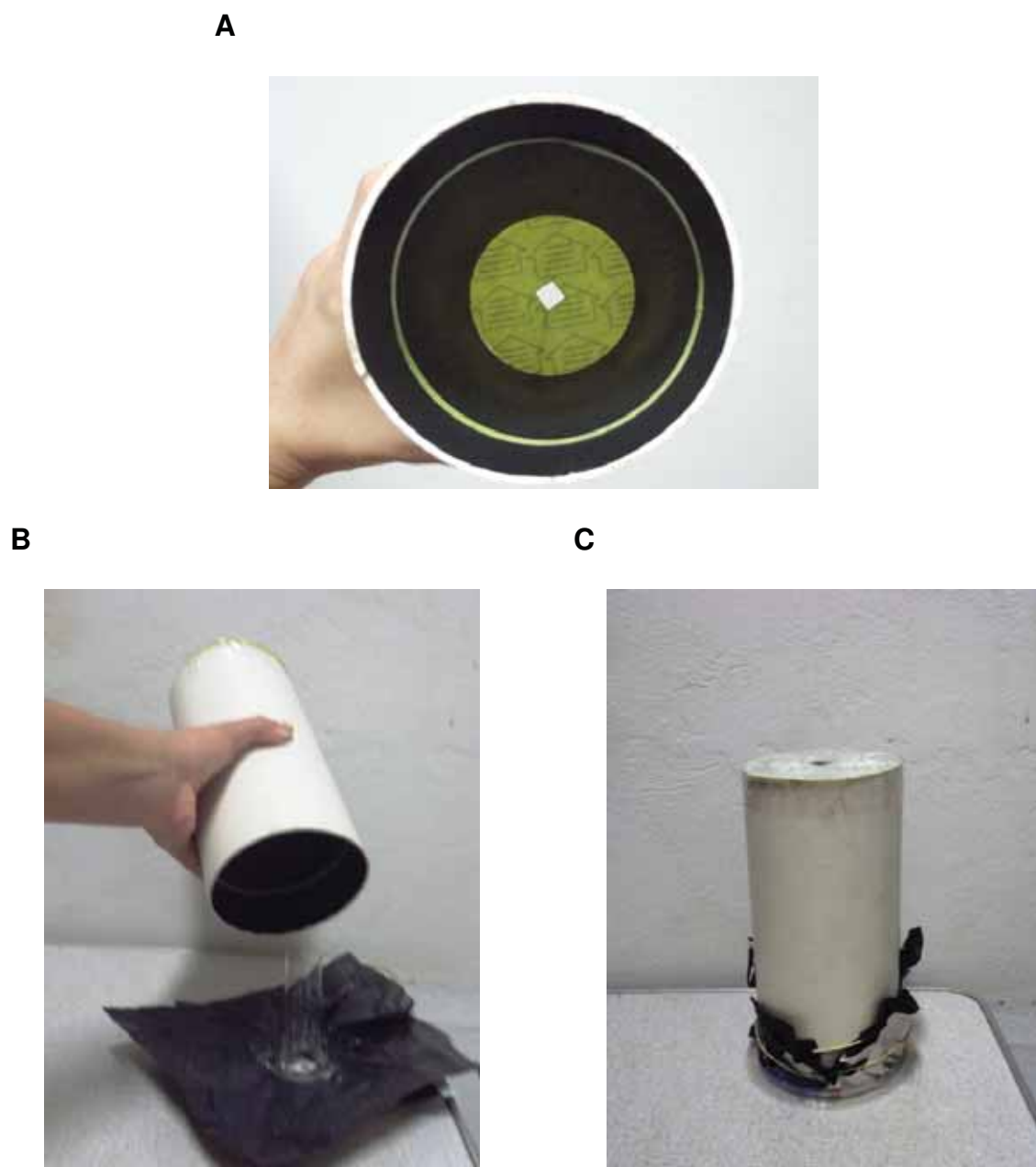


Figura 1. Unidades-teste para avaliação da atividade de voo de duas linhagens de *Telenomus remus* em laboratório: **A.** Detalhe do cilindro de PVC internamente. **B.** Vedação do cilindro e fixação dos tubos de vidro. **C.** Detalhe do cilindro de PVC externamente.

Os ovos próximos à emergência (24h antes) foram acondicionados no fundo de um tubo de vidro (8 cm x 2 cm diam.). O tubo foi fixado no centro da região inferior da unidade-teste, por meio de uma fita adesiva, permitindo caminhamento dos parasitoides pelo tubo enquanto ocorre o processo de distensão das asas. Assim os indivíduos voadores podem ultrapassar a barreira adesiva, evitando-se

erros na avaliação (PREZOTTI et al., 2002). Foi fornecido mel puro em gotículas nas paredes do tubo como alimento para os parasitoides emergidos.

As unidades-teste foram mantidas em câmaras climatizadas sob condições controladas (25 ± 1 °C, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e 12:12 L:E) por 48h. Após esse período, os insetos foram congelados, para proceder-se às avaliações. O número de parasitoides na barreira adesiva (caminhadores), na tampa (voadores) e no fundo (não voadores) foram registrados com o auxílio de um microscópio estereoscópio. Os dados foram expressos em porcentagem em relação ao número total de adultos emergidos.

2.5 Análise Estatística

Os parâmetros biológicos correspondentes ao parasitismo médio, longevidade, tempo de desenvolvimento e tempo de oviposição foram comparados usando Análise de Variância (ANOVA), teste de Fisher para comparações múltiplas entre médias. A eficiência de busca foi comparada através do teste de Kruskal-Wallis. A sobrevivência da progênie (F1) foi comparada utilizando o teste Kaplan-Meier com o método de comparações múltiplas Log-rank utilizando o software estatístico IBM SPSS 19. Parâmetros da tabela de vida de fertilidade e respectivos erros padrão e intervalos de confiança foram estimados utilizando o software PROC LIFETABLE.SAS através da técnica de “jackknife” e as médias foram comparadas pelo teste t uni e bicaudal, ($P \leq 0,05$), utilizando estimativa Jackknife de suas respectivas variâncias (MAIA; LUIZ; CAMPANHOLA, 2000).

O tipo de resposta funcional e os seus parâmetros foram estimados de acordo com Juliano (2001) por meio de regressão logística usando o modelo de regressão não linear para ajustar os dados para o modelo de resposta funcional selecionado. Os dados obtidos foram submetidos a análise de regressão logística por máxima probabilidade usando a função polinomial PROC CATMOD (SAS Institute, 2004):

$$\frac{N_p}{N_o} = 1 + e^{\frac{(P_0 + P_1 N_0 + P_2 N^2_0 + P_3 N^3_0)}{(P_0 + P_1 N_0 + P_2 N^2_0 + P_3 N^3_0)}}$$

Onde: N_p é o número de ovos parasitados; N_o é o número de ovos oferecidos e P_0 , P_1 , P_2 , e P_3 são os coeficientes dos parâmetros estimados da regressão e relacionados com a inclinação da curva. A resposta funcional do tipo I é indicada por termos lineares não significativamente diferentes de zero (inclinação zero); o tipo II por um valor negativo significativo de P_0 e tipo III pelos parâmetros P_0 positivo e P_1 negativo (JULIANO, 2001).

A análise da capacidade de voo foi realizado usando teste de Kruskal Wallis e Games-Howel ($\alpha=0,05$) para comparações múltiplas entre médias, devido a que os dados não apresentaram normalidade nem homogeneidade de variâncias, usando-se o software Statistic SPSS 19.

3. RESULTADOS

3.1 Biologia comparada

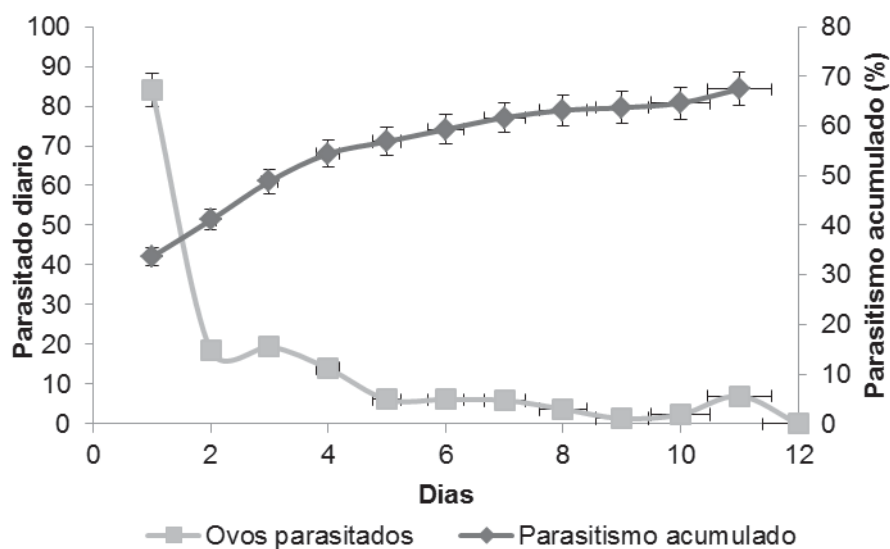
O parasitismo diário de *T. remus* decresceu com a idade das fêmeas. O maior nível de parasitismo ocorreu no primeiro dia nas duas linhagens (Figura 2). A média de ovos parasitados nas primeiras 24h foi $84,15 \pm 2,01$ e $101,55 \pm 2,79$ para a LB e LV, respectivamente. A LV alcançou 80% da sua capacidade máxima de parasitismo no segundo dia enquanto que a brasileira alcançou-este percentual apenas quatro dias depois.

Os resultados mostraram diferenças significativas entre as duas linhagens na capacidade total de parasitismo ($F_{1,38}=4,76$; $P=0,035$). O melhor desempenho de parasitismo foi obtido pela linhagem venezuelana que apresentou maior fecundidade total.

A longevidade das fêmeas ($F_{1,38}=0,11$; $P=0,74$), bem como o tempo de desenvolvimento ($F_{1,39}=0,44$; $P=0,67$) não foi significativamente diferente entre as duas linhagens. Embora, a longevidade da progênie foi influenciada pela linhagem ($F_{1,462}=788,18$; $P<0,0001$) e pelo sexo ($F_{3,460}=496,02$; $P<0,0001$), demonstrando uma marcada diferença no tempo de vida entre as fêmeas solitárias (mães) e as fêmeas e os machos da progênie, os quais permaneceram em grupo. Na progênie, as fêmeas da LB viveram em média 52% mais do que os machos, e na LV 48,17% a mais. Já entre linhagens, as fêmeas da LB viveram 60,64% mais do que as fêmeas da LV (Tabela 1).

As curvas de sobrevivência dos adultos da progênie apresentaram diferenças significativas entre os sexos e linhagens ($S=732,959$; $gl=3$; $P<0,001$). Os indivíduos da LB (fêmeas e machos) apresentaram maior sobrevivência do que os da LV. (Figura 3).

A



B

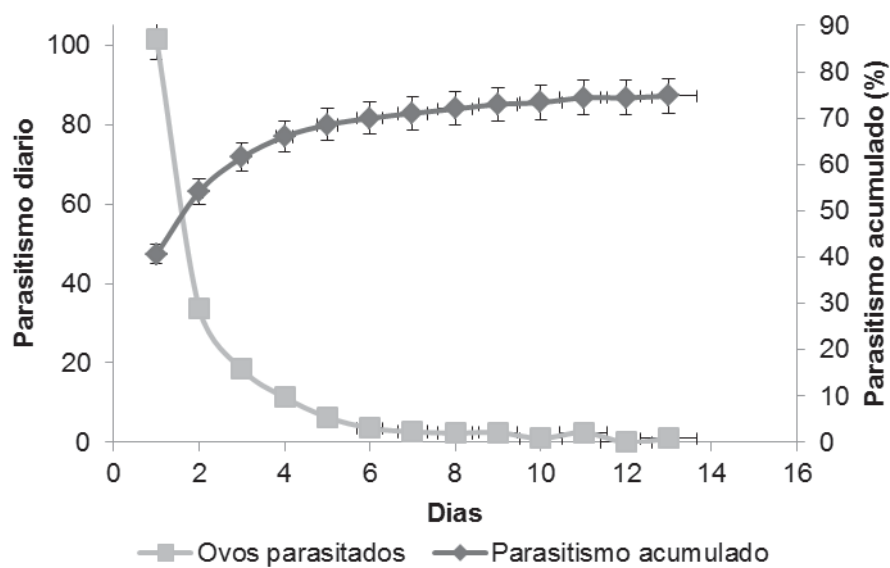
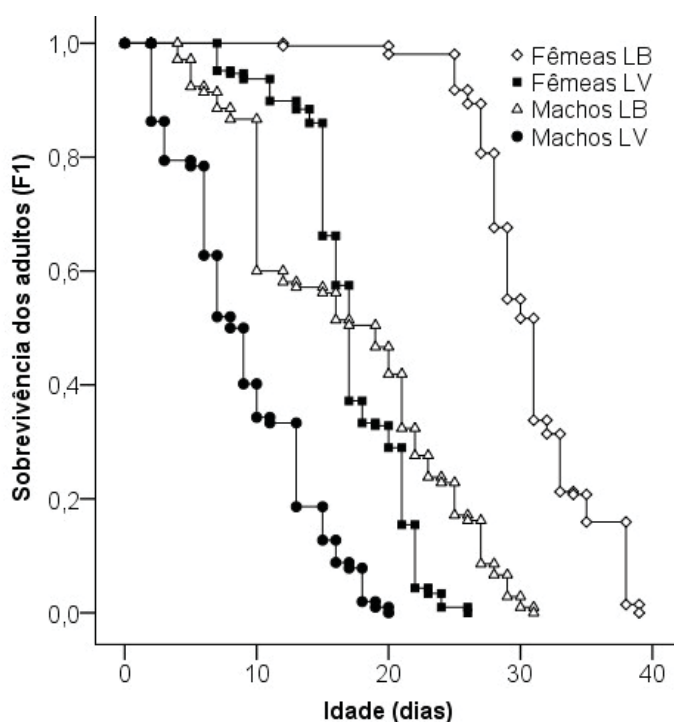


Figura 2. Paratismo diário e acumulado ($\pm$ DP) de *Telenomus remus* sobre ovos de *Spodoptera frugiperda*. Seta indica nível de 80% do paratismo. A. Linhagem brasileira. B. Linhagem venezuelana.

Tabela 1. Parâmetros biológicos ($\pm$ DP) de *Telenomus remus* parasitando ovos de *Spodoptera frugiperda*.

Parâmetros biológicos	Linhagem	
	LB	LV
Número total de ovos parasitados/fêmea	145,85 $\pm$ 4,17 b	173,55 $\pm$ 3,84 a
Longevidade fêmeas (dias)	8,75 $\pm$ 2,65 a	8,45 $\pm$ 3,05 a
Tempo de desenvolvimento	11,97 $\pm$ 0,21 a	11,17 $\pm$ 0,38 a
Longevidade fêmeas F1 (dias)	30,79 $\pm$ 0,32 a	18,66 $\pm$ 0,29 b
Longevidade machos F1 (dias)	16,01 $\pm$ 0,65 a	8,99 $\pm$ 0,65 b

Médias seguidas pela mesma letra na linha são não significativamente diferentes de acordo com o teste Fisher ($P \leq 0,05$).

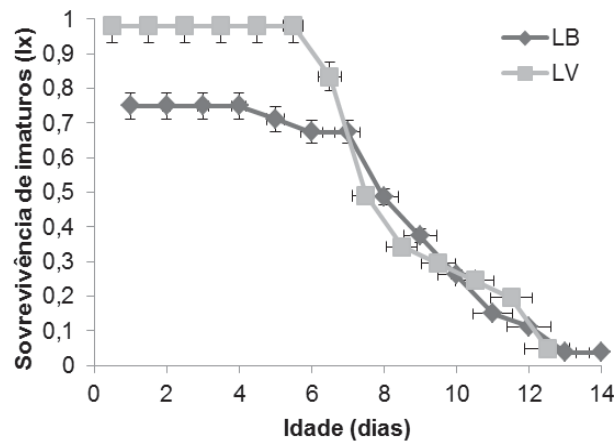
**Figura 3.** Sobrevivência dos adultos da progênie (F1) nas linhagens brasileira (LB) e venezuelana (LV) de *Telenomus remus* criados em ovos de *Spodoptera frugiperda*.

O período reprodutivo apresentou diferenças significativas ($F_{1,38}=4,158$; $P=0,048$). As fêmeas da LB ovipositaram em média durante 6,65 dias e as fêmeas da LV durante 7,70 dias. Ainda que a proporção média da sobrevivência dos

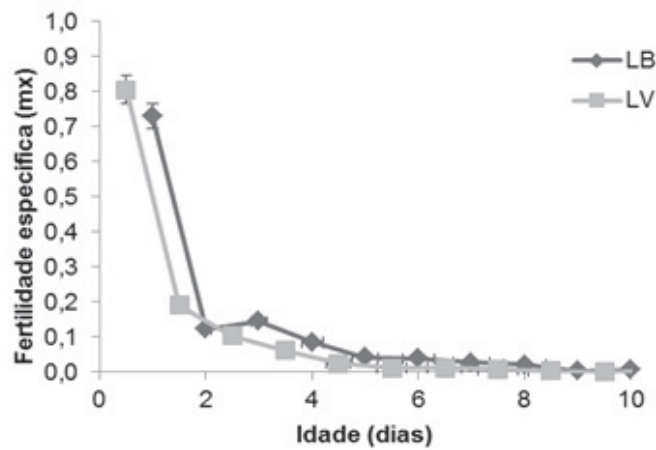
imaturos (l_x) foi maior para LV do que para LB, em ambas as linhagens, mostrou-se uma redução contínua com a idade da fêmea (Figura. 4A), semelhante ao que foi observado no parasitismo. Da mesma forma, houve uma diminuição da fertilidade específica (m_x) (Figura. 4B) e da proporção de fêmeas, respeito ao aumento da proporção de machos, conforme aumentava a idade das mães nas duas linhagens (Figura. 4C).

A taxa líquida de reprodução (R_0) e a taxa intrínseca de crescimento (r_m) calculadas a partir das tabelas de vida de fertilidade foram significativamente maiores para LV do que para LB (55,4 e 1,4 vezes maior, respectivamente) (Tabela 2). O tempo necessário para a população duplicar em número (Dt) da LV foi significativamente menor do que LB. Em contraste, a taxa finita de aumento (λ) e a duração média de cada geração (T) não mostraram diferença significativa entre as duas linhagens. Os resultados indicaram que a população da LB incrementa a uma taxa de 65,4 fêmeas por cada fêmea em uma geração e 1,6 fêmeas/dia em 12,1 dias; enquanto que a LV incrementa a uma taxa de 120,8 fêmeas por cada fêmea em uma geração e 6,2 fêmeas/dia em 11,4 dias.

A



B



C

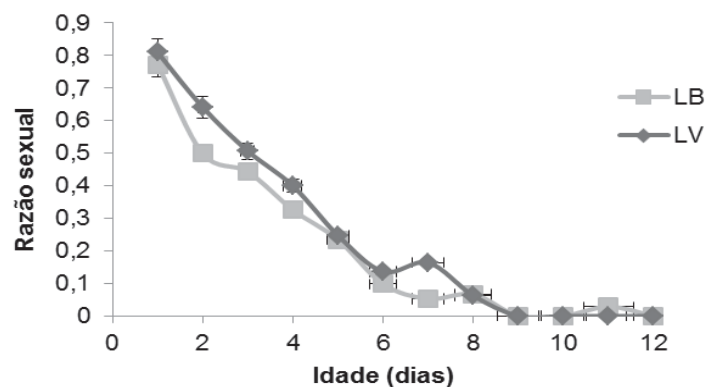


Figura. 4. Potencial reprodutivo de *Telenomus remus* criados em ovos *Spodoptera frugiperda*. A. Proporção de sobrevivência dos estágios imaturos em relação às fêmeas em idade reprodutiva (l_x). B. Proporção de descendentes que originarão novas fêmeas em relação às fêmeas em idade reprodutiva (m_x). C. Razão sexual em relação à idade reprodutiva das fêmeas.

Tabela 2. Parâmetros estimados associados às tabelas de vida e fertilidade: Estimativas jackknife (media±DP), intervalos de confiança 95% e valores de p bicaudal (P_b) e unicaudal (P_u) calculados através do teste t para comparação entre grupos.

Parâmetro	Linhagem		p - valores	
	Brasileira (LB)	Venezuelana (LV)		
	Jackknife Estimado	Jackknife Estimado	P_b	P_u
Taxa líquida de reprodução - R_0^a	65,352±5,474 (53,893-76,811)	120,760±5,863 (108,489-133,032)	0,0005	0,0002
Taxa intrínseca de crescimento - r_m^a	2,771±0,212 (2,306-3,194)	4,173±0,286 (3,575-4,772)	0,0268	0,9865
Taxa finita de aumento - λ^b	1,597±3,467 (0,802-2,253)	6,220±1,935 (2,171-10,270)	0,0003	0,9998
Intervalo de gerações (dias) - T^b	12,081±0,122 (10,572-17,663)	11,442±0,073 (9,921-12,952)	<0,0001	1,0000
Tempo necessário para a população duplicar - Dt^a	1,508±0,0189 (0,211-0,290)	0,165±0,011 (0,142-0,189)	0,0141	0,0071

a Comparado pelo teste t bicaudal

b Comparado pelo teste t unicaudal

3.2. Resposta funcional

Os resultados das duas linhagens permitiram realizar o ajuste das curvas à resposta funcional do tipo III (Tabela 3).

O número médio de ovos parasitados pelas fêmeas de *T. remus* aumentou com a densidade de ovos do hospedeiro. Observou-se uma tendência à estabilização do parasitismo na densidade de 200 ovos nas duas linhagens, embora, a LV tenha parasitado maior número de ovos nessa densidade do que LB (107,43±2,46 e 86,33±2,53 respectivamente) (Figura 5).

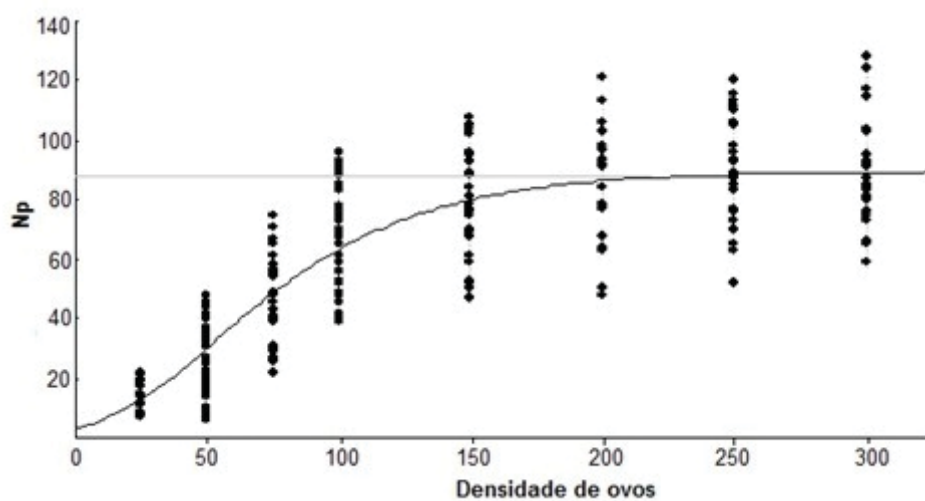
Ambas as linhagens mostraram uma diminuição na taxa de busca (a') com o aumento da densidade, embora a taxa de busca foi maior em todas as densidades para a LV do que na LB (Figura 6).

Tabela 3. Estimativas pela regressão logística da proporção de ovos de *Spodoptera frugiperda* parasitados por *Telenomus remus* em função das densidades de 25, 75, 100, 150, 200, 250 e 300 ovos.

Linhagem	Parâmetros	Estimativas ($\pm$ DP)	GL	χ^2	P
Brasileira (LB)	Intercepto	-0,1747 $\pm$ 0,0973	1	3,23	0,725
	Linear	0,0191 $\pm$ 0,00213	1	80,20	<0,0001
	Quadrático	-0,001 $\pm$ 0,0002	1	130,80	<0,0001
	Cúbico	2,718E-7 $\pm$ 2,489E-8	1	119,30	<0,0001
Venezuelana (LV)	Intercepto	0,6232 $\pm$ 0,1025	1	36.95	<0,0001
	Linear	0,00930 $\pm$ 0,00221	1	17.69	<0,0001
	Quadrático	-0,00009 $\pm$ 0,0002	1	45.03	<0,0001
	Cúbico	1,551E-7 $\pm$ 25,31E-8	1	37.57	<0,0001

As linhagens apresentaram diferenças significativas na eficiência de busca ($\chi^2 = 18,43$; gl= 1; P= 0,001). O tempo que as fêmeas da linhagem brasileira levaram para encontrar a postura foi em média 442,14 $\pm$ 13,94 s, enquanto as fêmeas da LV demoraram 122,17 $\pm$ 18,57 s, o que representou 27,63 % do tempo gasto pela LB. O tempo de oviposição/ovo não apresentou diferenças significativas entre as duas linhagens ($F_{1,227} = 0,64$; P= 0,42), o tempo médio que gastaram as fêmeas das linhagens brasileira e venezuelana foi 50,90 $\pm$ 14,96 e 52,95 $\pm$ 22,88 s/ovo, respectivamente.

A



B

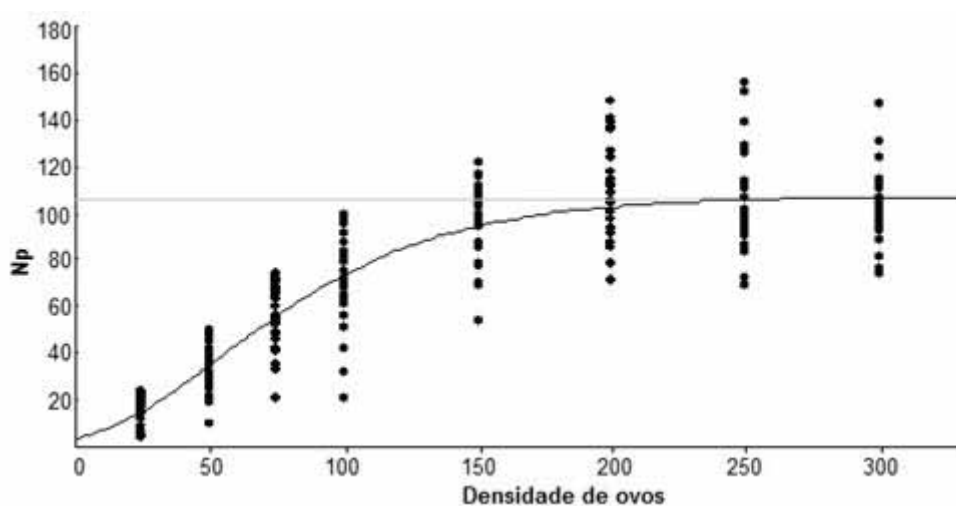


Figura 5. Resposta funcional de *Telenomus remus* em ovos de *Spodoptera frugiperda*. N_p = número de ovos parasitados/dia. Linha cinza indicando quantidade máxima de ovos parasitados A. Linhagem brasileira. B. Linhagem venezuelana.

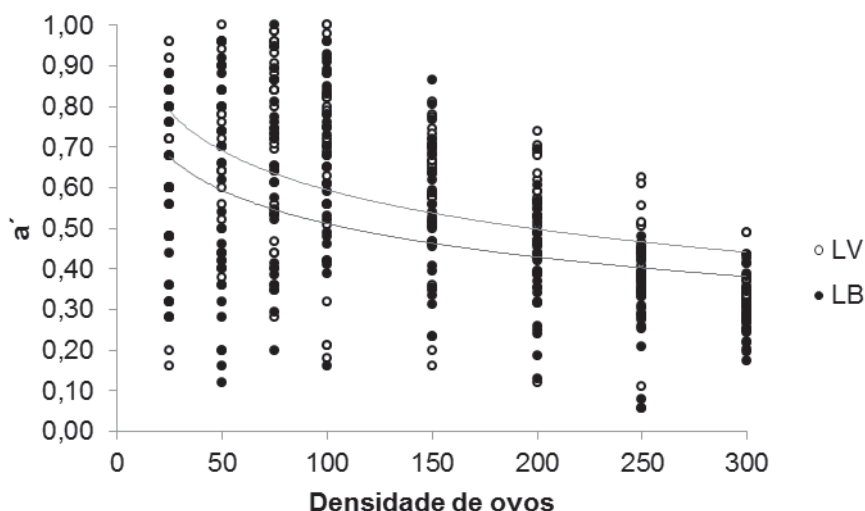


Figura 6. Taxa de busca de *Telenomus remus* em diferentes densidades de ovos de *Spodoptera frugiperda*. a' = Proporção de ovos parasitados/ovos disponíveis. LV = Linhagem brasileira. LB = Linhagem venezuelana.

3.3 Controle de qualidade

Observaram-se diferenças significativas na porcentagem de indivíduos capturados nos diferentes locais das unidades-teste; na tampa (voadores) ($X^2=14,32$; $P= 0,00001$), na barreira adesiva (caminhadores) ($X^2=13,66$; $P= 0,0002$), no fundo (não voadores) ($X^2=13,31$; $P= 0,0002$), e na porcentagem de indivíduos emergidos ($X^2=13,20$; $P= 0,0019$). Isso indica que o tempo da criação no laboratório teve efeito sobre a qualidade do parasitoide ao longo das gerações. A porcentagem média dos indivíduos voadores para a LB foi $34,40 \pm 3,10\%$ enquanto que para a LV foi $87,31 \pm 1,42$. A média dos caminhadores e não voadores na LB foi $26,94 \pm 3,07$ e $38,66 \pm 1,50$ respectivamente, somando $65,60\%$ dos indivíduos avaliados. Entretanto, na LV a média dos caminhadores e não voadores foi $7,87 \pm 1,14$ e $4,82 \pm 0,73$, totalizando $12,69\%$. Já, na porcentagem de emergência, a LB obteve em média valores mais baixos do que a LV ($57,40 \pm 2,88$ e $75,80 \pm 3,82$, respectivamente) (Figura 7).

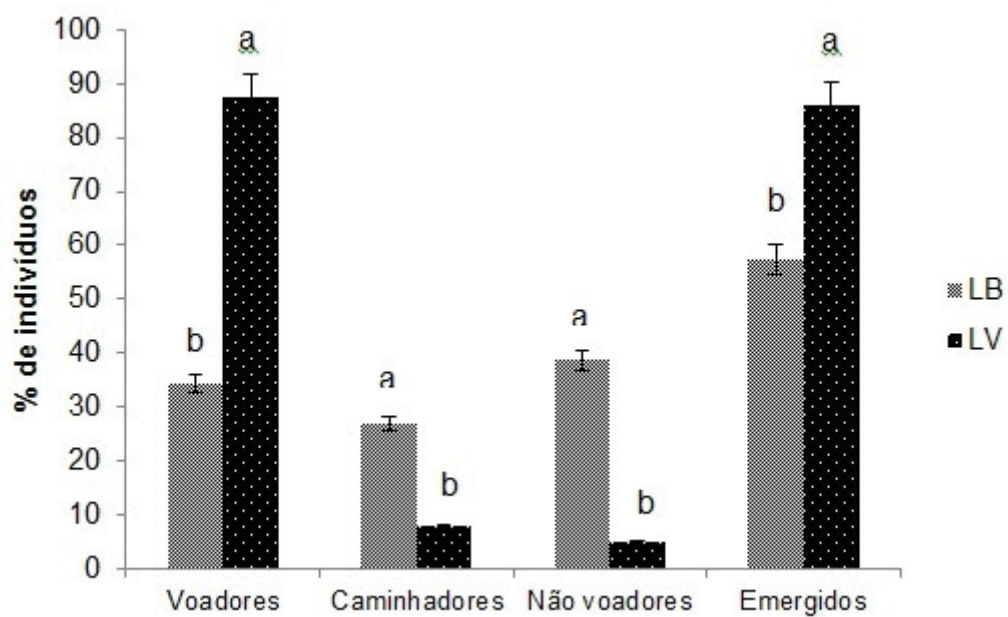


Figura 7. Porcentagem (média $\pm$ DP). de indivíduos voadores, caminhadores, não caminhadores e emergidos de duas linhagens de *Telenomus remus* (Médias seguidas pela mesma letra são não significativamente diferentes de acordo com o teste Tukey ($P \leq 0,05$)).

4. DISCUSSÃO

Diferenças na biologia e atividade de linhagens de parasitoides de ovos, adaptados a diferentes condições bióticas e abióticas, têm sido avaliadas para espécies dos gêneros *Trichogramma* (PAK; van HEININGEN, 1985; PRATISSOLI; PARRA, 2001; OLIVEIRA et al., 2005; POORJAVAD et al., 2011), *Trissolcus* (POWELL; SHEPARD, 1982; AWAN; WILSON; HOFFMANN, 1990) e *Telenomus* (COLAZZA; ROSI, 2001). Porém, especificamente para *T. remus*, este é o primeiro trabalho que avalia diferentes linhagens e analisa o efeito da criação por várias gerações em laboratório sobre os seus aspectos reprodutivos e comportamentais. Segundo Smith (1996), estudos de variações intraespecíficas possibilitam a seleção de linhagens mais apropriadas para liberação de parasitoides em agroecossistemas.

O pico de fecundidade obtido no primeiro dia nas duas linhagens foi observado também por Morales et al. (2000) e Bueno et al. (2010) para *T. remus* parasitando ovos de *S. frugiperda*, bem como para outras espécies do gênero como *T. podisi* Ashmead (PACHECO; CORRÊA-FERREIRA, 1998), *T. calvus* Johnson (ORR; RUSSI; BOETHEL, 1986). Após isto, verificou-se a mesma tendência à diminuição de ovos parasitados com a idade da fêmea (BUENO et al. 2010). Este comportamento também foi observado tanto em fêmeas selvagens quanto em fêmeas provenientes de diferentes gerações de laboratório (BAITHA, 2005; OLIVEIRA et al., 2005).

Portanto, observou-se que as fêmeas mais novas demonstraram maior capacidade de parasitismo o qual, foi observado também por Morales et al. (2000) e Bueno et al. (2010). Isso é típico de espécies provigênicas, as quais nascem com uma dotação de ovos determinado, permitindo o ataque de vários hospedeiros desde o primeiro dia vida. Ao contrário, nas espécies sinovigênicas, os ovos são maturados durante a vida da fêmea (FLANDERS, 1950). Assim, ambas as linhagens de *T. remus* avaliadas poderiam potencialmente atacar de forma eficaz a praga logo depois da liberação.

Embora, as diferenças observadas na fecundidade total sugerem uma variação entre as linhagens na capacidade para explorar os recursos. Estudos realizados em *Tr. chilonis* por Nagarkatti e Nagaraja (1978) e Bahita (2005)

demostraram também que a fecundidade da linhagem selvagem é maior do que as linhagens criadas em laboratório.

Assim mesmo, o padrão apresentado nos parâmetros reprodutivos avaliados (diminuição com o avanço da idade da fêmea na sobrevivência dos imaturos (l_x), na fertilidade específica (m_x) e na razão sexual) parece ser uma característica geral de Telenominae já que tem sido observado nos gêneros *Trissolcus* (AWAN; WILSON; HOFFMANN, 1990; KIVAN; KILIC, 2006) e *Telenomus* (PACHECO; CORRÊA-FERREIRA, 1998). Segundo Laumann et al. (2008), esses resultados mostram um claro efeito da idade da fêmea na viabilidade dos ovos colocados, bem como uma esgotamento do esperma que leva à redução da razão sexual.

As diferenças observadas na longevidade e sobrevivência entre as fêmeas solitárias (mães) e as fêmeas e machos em grupo (progênie) foram estudadas por Schwartz e Gerling (1974), os quais comprovaram que as fêmeas solitárias vivem em média 8 dias, enquanto as fêmeas em grupos 18 dias. Por outro lado, os machos vivem 8 dias independentemente de estarem em grupo ou não. A maior longevidade e sobrevivência das fêmeas da progênie podem dever-se ao fato de não estar na presença do hospedeiro. Orr; Russi; Boethel (1986) verificaram que a longevidade das fêmeas de *T. calvus* sem a presença do hospedeiro, alimentadas com mel, foi de 33,7 dias. Todavia, este período foi reduzido para 5,7 dias quando colocadas com o seu hospedeiro *Podisus maculiventris* Say. (Hemiptera: Pentatomidae), Isso pode indicar que as fêmeas de *T. remus* reabsorvem os ovos, o qual é conhecido como uma estratégia adaptativa que lhes permite aos parasitoides conservar os recursos metabólicos e transformá-los em energia quando o hospedeiro está em condições desfavoráveis (BELL; KOUFOPANOU, 1986).

Além disso, tal como foi observado no presente trabalho, Nagarkatti e Nagaraja (1978) e Baitha (2005) e encontraram que as linhagens de laboratório viveram por um tempo maior do que as linhagens selvagens, embora, deixando um número menor de descendentes. Isso está relacionado com o período reprodutivo, o qual foi maior na LV do que na LB. Em outras palavras, a vida “efetiva” de reprodução das linhagens de laboratório é menor que as linhagens selvagens.

Os dados obtidos sobre taxa líquida de reprodução (R_0), taxa intrínseca de crescimento (r_m) e a taxa finita de aumento (λ) indicam claramente que a LV é

intrinsecamente mais agressiva do que a LB. É sabido que a criação em laboratório por longo tempo afeta a atividade e vigor de parasitoides, como nos trabalhos de Nagarkatti e Nagaraja (1978) e Bahita (2005) e que obtiveram resultados semelhantes ao avaliar o crescimento populacional. Bueno et al. (2008) realizaram a tabela de vida de fertilidade da mesma linhagem brasileira quatro anos antes do presente trabalho (aprox. 122 gerações de diferença) e reportaram valores de R_0 e T maiores do que os obtidos aqui. Isso indica a linhagem pode estar perdendo vigor e agressividade através das gerações mantidas em criação constante no laboratório.

A eficiência de busca também foi maior na LV. Em um estudo anterior realizado com a mesma linhagem brasileira, Carneiro (2008) observou que as fêmeas de *T. remus* levaram em média $275,4 \pm 0,9$ s para encontrarem o hospedeiro em placas de Petri de 9 cm de diâmetro. No presente estudo, realizado 122 gerações após, a área de forrageamento para a avaliação da eficiência de busca foi reduzida (1,5 cm de diâmetro), embora isso não representasse diminuição no tempo de busca, aliás, o tempo gasto no encontro da postura foi mais do que o dobro (160,54%) na linhagem brasileira. Isso evidencia que o tempo de permanência na criação em laboratório afeta o tempo de busca do hospedeiro de *T. remus*.

O tempo de oviposição nos hospedeiros é um processo importante para o sucesso do parasitismo, especialmente em parasitoides especialistas (CAVE; GAYLOR; BRADLEY, 1987) como *T. remus*. O tempo médio de oviposição de *T. remus* parasitando ovos de *S. frugiperda* calculado por Carneiro et al. (2010) foi de 40,6-41,8 s/ovo, embora neste trabalho foi de aproximadamente 10s a mais nas duas linhagens. Isso, possivelmente foi influenciado pelas características do hospedeiro, já que as colônias de *S. frugiperda* utilizadas nas duas pesquisas vieram de criações diferentes. Schwartz e Gerling (1974) relataram que o tempo médio de oviposição das fêmeas de *T. remus* parasitando ovos de *Spodoptera litoralis* Boisduval foi de 37 s/ovo. Um dos fatores mais importantes da resposta funcional é o tempo de oviposição do hospedeiro, já que esse tempo está diretamente relacionado com o número de ovos que uma fêmea terá a capacidade de parasitar (CAVE; GAYLOR; BRADLEY, 1987).

A resposta funcional de fêmeas de *T. remus* a *S. frugiperda* foi avaliada por Morales et al. (2001) e Carneiro et al. (2010). Esses autores observaram um

aumento do parasitismo ao se incrementar a densidade de ovos do hospedeiro com uma tendência à estabilização a partir da densidade 150. Isto indica que o parasitoide responde eficientemente só às altas densidades do hospedeiro, que foi confirmado pela obtenção de resposta tipo III.

O estudo obtido por Carneiro et al. (2010) para *T. remus*, bem como o realizado para outras espécies do gênero como *T. reynoldsi* (CAVE; GAYLOR, 1989) mostraram curvas de reposta tipo II, embora Jamshidnia et al. (2010) acharam resposta tipo III para *Telenomus busseolae* Gahan parasitando *Sesamia nonagrioides* Lefebvre. Na curva de tipo III, aqui obtida, ao contrário da resposta tipo II, a proporção de hospedeiros parasitados (ou presas consumidas) inicialmente é incrementado (Juliano, 1993). Esse fato sugere que a utilização de *T. remus* das duas linhagens em programas de controle biológico deve ser vista com ressalvas sob baixa infestação da praga.

Além da eficiência de busca é a resposta do parasitoide à densidade do hospedeiro, a capacidade de voar e caminhar são características imprescindíveis nos inimigos naturais que vão ser usados em programas de controle biológico, pois isso está relacionado com o forrageamento e a dispersão no campo (GARDNER; van LENTEREN, 1986).

Considerando-se a porcentagem de parasitoides voadores nas unidades teste, pode-se afirmar que a LV apresentou qualidade superior em comparação à LB. O fato da LB possuir maior porcentagem de indivíduos não voadores do que caminheiros pode indicar que parte da linhagem apresenta uma perda da característica natural de voar em direção à luz logo após a emergência. Esse resultado também foi observado por Prezotti et al. (2002) avaliando a capacidade de voo de três linhagens de *Tr. pretiosum* ao longo de 21 gerações de laboratório. De forma semelhante, Dutton e Bigler (1995) encontraram também uma perda na capacidade de voo em duas linhagens de *Tr. brassicae* Bezdenko avaliadas depois de duas e 39 gerações em laboratório.

Todavia, Soares et al. (2012) obtiveram o resultado contrário em que as linhagens de *Tr. pretiosum* e *Tr. atopovirilia* recém coletadas a campo apresentaram menor porcentagem de indivíduos voadores do que as linhagens de criação massal. Isso decorreu pois as linhagens de campo se encontravam em processo de

adaptação às condições de laboratório e ao hospedeiro utilizado. Com isso, confirma-se que a LV adaptou-se com sucesso às condições fornecidas

A LV poderia ser mais apta para dispersar-se satisfatoriamente ao ser liberada em campo do que a LB, além de parasitar mais eficientemente, mesmo tendo sido multiplicada em laboratório por dez gerações. Assim, a LV pode ser sugerida como parte de programas de controle biológico de *S. frugiperda*, já que segundo Soares et al. (2012), espécies ou linhagens com alta capacidade de voo e de emergência podem se dispersar mais rápido na procura do hospedeiro e produzir números elevados de progênie em períodos mais curtos de tempo.

Atributos como a emergência, o parasitismo e a capacidade de voo podem variar ao longo do processo de multiplicação no laboratório tal como foi observado neste estudo. É sabido que a manutenção em laboratório por longo tempo afeta a atividade e qualidade dos parasitoides, e consequentemente o controle biológico (van LENTEREN, 2003). Por isso, a atual recomendação do Grupo de Controle de Qualidade da IOBC para parasitoides é selecionar, preliminarmente, com critérios rigorosos, linhagens e espécies com base em características biológicas e comportamentais para programas de controle biológico (HASSAN, 1994).

Uma das problemáticas da criação massal de inimigos naturais é a falta de técnicas para evitar que pressões de seleção levem à perda de eficácia dos organismos produzidos. As condições constantes fornecidas no laboratório levam a uma domesticação dos insetos, uma vez que sobrevivem os genótipos mais adaptados a esse novo ambiente, induzindo a população a deriva genética, endogamia e seleção (van LENTEREN, 2003).

Diante disso, é importante ressaltar que a criação no tempo de *T. remus* requer cuidados que limitem a perda do potencial de controle. Avaliações subsequentes de qualidade podem ser feitas no processo de criação o que possibilitaria tomar medidas rápidas como diferentes estratégias de criação. Embora é importante ressaltar que não necessariamente uma linhagem de alta qualidade em laboratório é sinônimo de parasitoides eficientes em campo (PREZOTTI et al. 2002).

Dentro dessas estratégias de criação, van Lenteren (2003) assinala condições variáveis no laboratório (variação do tempo e espaço, diferentes regimes de luz,

temperatura e umidade), infusão genética (introdução de indivíduos selvagens ou diferentes linhagens periodicamente) e uso de sistemas de criação em semi-campo. Por outro Nunney (2003) considera a manutenção de diversas linhas puras (*Isofemale lines*) em laboratório como possível solução.

Existem relativamente poucos estudos que comparem a perda de características desejáveis em parasitoides de ovos e documentem as consequências para o controle biológico. Devido à falta de estudos sobre a criação massal de *T. remus* este estudo aporta conhecimentos sobre as interações parasitoide-hospedeiro que podem contribuir à implantação de programas de controle biológico contra lagarta-do-cartucho.

5. REFERÊNCIAS

AWAN, M. S.; WILSON, L. T.; HOFFMANN, M. P. Comparative biology of three geographic populations of *Trissolcus basalis* (Hymenoptera: Scelionidae). **Environmental Entomology**, Lanham, v. 19, n. 2, p. 387-392, 1990.

BAITHA, A. Growth Rate differences of wild vs laboratory reared sugarcane adapted strains of *Trichogramma chilonis* Ishii (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Sugar Tech**, Lucknow, v. 7, n. 2-3, p. 53-56, 2005.

BELL, G.; KOUFOPANOU, V. The cost of reproduction. **Oxford Surveys in Evolutionary Biology**, v. 3, p. 83–131, 1986.

BESERRA, E. B.; PARRA, J. R. P. Impact of the number of *Spodoptera frugiperda* egg layers on parasitism by *Trichogramma atopovirilia*. **Scientia Agricola**, Piracicaba v. 62, p.:190-193, 2005.

BUENO, R. C. O. F.; CARNEIRO, T. R.; BUENO, A. F.; PRATISSOLI, D.; FERNANDES, O. A.; VIEIRA, S. S. Tabela de vida de fertilidade de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) criados em ovos de *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes temperaturas. **Ecossistema**, Espírito Santo do Pinhal, v. 33, n.1-2, p. 45-19, 2008.

BUENO, R. C. O. F.; CARNEIRO, T. R.; BUENO, A. F.; PRATISSOLI, D.; FERNANDES, O. A.; VIEIRA, S. Parasitism capacity of *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) on *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) eggs. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 53, n. 1, p. 133-139, 2010.

CARNEIRO, T. R. **Dinâmica populacional de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho safra e safrinha e competição entre *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae)**. 2008. 131f. Tese (Doutorado em Agronomia-Entomologia Agrícola) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2008.

CARNEIRO, R. T.; FERNANDES, O. A.; CRUZ, I; BUENO, R. C. O. F. Functional response of *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) to *Spodoptera*

frugiperda (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) eggs: effect of female age. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 54, n. 4, p. 692–696, 2010.

CAVE, R. D.; GAYLOR, M. J.; BRADLEY, J. T. Host handling and recognition by *Telenomus reynoldsi* (Hym.: Scelionidae), an egg parasitoid of *Geocoris* spp. (Heteroptera: Lygaeidae). **Annals of Entomological Society of America**, Collage Park, v. 80, p. 217–223, 1987.

CAVE, R. D.; GAYLOR, M. J. Functional response of *Telenomus reynoldsi* (Hym: Scelionidae) at five constant temperatures and in an artificial plant arena. **Entomophaga**, Bangalore, v. 34, p. 3–10, 1989.

CAVE, R.D. Biology, ecology and use in pest management of *Telenomus remus*. **Biocontrol News and Information**, v.21, n.1, p.21–26, 2000.

COLAZZA, S.; ROSI, M. C. Differences in the searching behavior of two strains of the egg parasitoid *Telenomusbusseolae* (Hymenoptera: Scelionidae). **European Journal of Entomology**, Bratislava, v. 98, p. 47–52, 2001.

CRUZ, J. C.; da SILVA, G. H.; PEREIRA, I. A.; NETO, M. M. G.; MAGALHÃES, P. C. Caracterização do cultivo de milho safrinha de alta produtividade em 2008 e 2009. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete lagoas, v.9, n.2, p.177–188. 2010.

DIEZ-RODRIGUEZ, G. I.; OMOTO, C. Herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambda-cialotrina. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.30, p.311–316, 2001.

DUTTON, A.; BIGLER, F. Flight activity assessment of the egg parasitoid *Trichogramma brassicae* (Hym.: Trichogrammatidae) in laboratory and field conditions. **Entomophaga**, Bangalore, v. 40, p. 223–233, 1995.

FIGUEIREDO, M. L. C.; CRUZ, I.; DELLA LUCIA, T. M. C. Controle integrado de *Spodoptera frugiperda* (Smith & Abbott) utilizando-se o parasitóide *Telenomus remus* Nixon. **Pesquisa. Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n.11: 1975–1982, 1999.

FIGUEIREDO, M. L. C.; DELLA LUCIA, T. M. C.; CRUZ, I. Effect of *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) density on control of *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) egg masses upon release in a maize field. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 2, p. 12–19, 2002.

FLANDERS, S. E. Regulation of Ovulation and Egg Disposal in the Parasitic Hymenoptera. **The Canadian Entomologist**, Ottawa, v. 82, n. 6, p 134-140, 1950.

GARCÍA-ROA F.; MOSQUERA, E. M. T.; VARGAS, S. C. A; ROJAS, A. L. Control biológico, microbiológico y físico de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), plaga del maíz y otros cultivos en Colombia. **Revista Colombiana de Entomología**, Bogotá, v. 28, p. 53-60, 2002.

GARDNER, S. M.; LENTEREN, J. C. van. Characterization of the arrestment responses of *Trichogramma evanescens*. **Oecologia**, Berlin, v.8, n.2, p.265-270, 1986.

HASSAN, S. A. Strategies to select *Trichogramma* species for use in biological control. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S. A. (Eds.). **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: CAB International, 1994. p. 55-72.

HERNÁNDEZ, D.; FERRER, F.; LINARES, B. Introducción de *Telenomus remus* Nixon (Hym.: Scelionidae) para controlar *Spodoptera frugiperda* (Lep.: Noctuidae) en Yaritagua Venezuela. **Agronomía Tropical**, Maracay, v. 39, n. 1-3, p. 45-61, 1989.

IBM SPSS STATISTIC, 2011. IBM SPSS STATISTIC program, version 19 statistical software packages. IBM corporation, New York.

JAMSHIDNIA, A.; KHARAZI-PAKDEL, A.; ALLAHYARI, H.; SOLEYMANNEJADIAN, E.; Functional response of *Telenomus busseolae* (Hym.: Scelionidae) an egg parasitoid of the sugarcane stem borer, *Sesamia nonagrioides* (Lep.: Noctuidae) at different temperatures. **Biocontrol Science and Technology**, Abingdon, v. 20, n. 5-6, p. 631-640, 2010.

JULIANO, S. A. Nonlinear curve fitting: predation and functional response curves. In: SCHEINER, S. M.; GUREVITCH, J. (Eds.), **Design and Analysis of Ecological Experiments**. Oxford University Press: New York, 2001. p. 178–198.

KASTEN, Jr. A. A.; PRECETTI, C. M.; PARRA, J. R. P. Dados biológicos comparativos de *Spodoptera frugiperda* em duas dietas artificiais e substrato natural. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 53, p. 68-78, 1978.

KIVAN, M.; KILIC, N. Age-specific fecundity and life table of *Trissolcus semistriatus*, an egg parasitoid of the sunn pest *Eurygaster integriceps*, **Entomological Science**, Tokyo, v. 9, n. 39–46, 2006

LAUMANN, R. A.; MORAES, M. C. B.; PAREJA, M.; ALARCÃO, G. C.; BOTELHO, A. C.; MAIA, A. H. N.; LEONARDECZ, E.; BORGES, M. Comparative biology and functional response of *Trissolcus* spp. (Hymenoptera: Scelionidae) and implications for stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae) **Biological Control**, San Diego, v. 44, p. 32–41, 2008.

LENTEREN, J. C. van. Need for quality control of massproduced biological control agents. In: _____ (Ed). **Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures**, Wageningen: Wageningen University, 2003. p. 1-18.

MAIA, A. H. N.; LUIZ, A. J. B.; CAMPANHOLA, C. Statistical inference on associated fertility life table parameters using jackknife technique: computational aspects. **Journal of Economic Entomology**, College Park MD, v. 93, p. 511–518, 2000.

MORALES, J. S.; GALLARDO, J. S.; VÁSQUEZ, C.; RÍOS, Y. Patrón de emergencia, longevidad, parasitismo y proporción sexual de *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae) con relación al cogollero del maíz. **Bioagro**, Barquisimeto, v.12, n.2, p. 47-54, 2000.

NAGARKATTI, S.; NAGARAJA, H. Experimental comparison of laboratory reared vs. wild-type *Trichogramma confusum* (=chilonis) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) I: Fertility, fecundity and longevity. **Entomophaga**, Bangalore, v. 23, n. 2, p. 129-136, 1978.

NUNNEY, L. . Managing Captive Populations for Release: a Population-genetic Perspective. In: LENTEREN, J. C. van. (Ed) **Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures**, Wageningen: Wageningen University, 2003. p. 73-88

OLIVEIRA, H. N. de.; COLOMBI, C. A.; PRATISSOLI, D.; PEDRUZZI, E. P.; DALVI, L. P. Capacidade de parasitismo de *Trichogramma exiguum* Pinto & Platner, 1978 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) criado em dois hospedeiros por diversas gerações. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 2, p. 284-288, 2005.

ORR, D. B.; RUSSI, J. S.; BOETHEL, D.J. Reproductive biology and behavior of *Telenomus calvus* (Hymenoptera: Scelionidae) a phoretic egg parasitoid of *Podisus maculiventris* (Hemiptera: Pentatomidae). **Canadian Entomologist**, v. 118, p. 1063-1072, 1986.

PACHECO, D. J. P.; CORRÊA-FERREIRA, B. S. S. Reproductive potential and longevity of the parasitoid *Telenomus podisi* Ashmead in eggs of different stink bugs species. **Annais da Sociedade Entomologica do Brasil**, Londrina, v. 27, p. 585–591, 1998.

PAK, G. A.; van HEININGEN, T. G. Behavioural variations among strains of *Trichogramma* spp.: Adaptability to field temperature conditions. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 38, p. 3–13, 1985.

PEDRASI T. C.; PARRA J. R. P. Técnica de criação e determinação das exigências térmicas de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera, Scelionidae). In: X Congresso Brasileiro de Entomologia, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: SEB, 1986. p. 227.

PRATISSOLI, D.; PARRA, J. R. P. Seleção de linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle de *Tuta absoluta* (Meyrick) e *Phythorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, p. 277-282, 2001.

PREZOTTI, L.; PARRA, J. R. P.; VENCOSKY, R.; DIAS, C. T.; CRUZ, I.; CHAGAS, M. C. M. Teste de vôo como critério de avaliação da qualidade de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae): adaptação de metodologia. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 3, p.411-417, 2002.

POORJAVAD, N.; GOLDANSAZ, S. H.; HOSSEININAVEH, V.; NOZARI, J.; DEHGHANIY, H.; ENKEGAARD A. Fertility life table parameters of different strains of *Trichogramma* spp. collected from eggs of the carob moth *Ectomyelois ceratoniae*. **Entomological Science**, Tokyo, v. 14, p. 245–253, 2011.

POWELL, J. E.; SHEPARD. M. Biology of australian and United States strains of *Trissolcus basal*, a parasitoid of the green vegetable bug *Nezara viridula*. **Australian Journal of Ecology**, Canberra, v. 7, p. 181-186, 1982.

SAS Institute. 2004. SAS/STAT user's guide, release 9.1 ed.SAS Institute, Cary, NC.

SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; NOVA, N, A, V. Manual de ecologia dos insetos. **Escola Superior de Agricultura** "Luiz de Queiroz": Piracicaba, 1976. p. 239-243.

SCHWARTZ, A.; GERLING, D. Adult biology of *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae) under laboratory conditions. **Entomophaga**, Bangalore, v. 19, n. 4, p. 482-492. 1974.

SMITH, S. M. Biological control with *Trichogramma*: advances, successes, and potential of their use. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v.41, p.375-406, 1996.

SOARES, M. A.; LEITE, G. L. D.; ZANUNCIO, J. C.; SÁ, V. G. M. DE.; FERREIRA, C. S.; ROCHA, S. L.; PIRES, M.; SERRÃO, J. E. Quality Control of *Trichogramma atopovirilia* and *Trichogramma pretiosum* (Hym.: Trichogrammatidae) Adults Reared Under Laboratory Conditions. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.55, n.2,; p. 305-311, 2012.

VET, L. E. M.; LENTEREN, J. C. van.; HEYMANS, M.; MEELIS, E. An airflow olfactometer for measuring olfactory responses of hymenopterous parasitoids and other small insects. **Physiological Entomology**, London, v. 8, p. 97-106, 1983.

CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que *Telenomus remus* perde vigor e reduz a sua atividade através de sucessivas gerações mantidas em criação no laboratório. Embora as linhagens tenham apresentado similaridade genética nos padrões de restrição avaliados, isso não implica na similaridade na biologia, atividade ou comportamento frente ao hospedeiro.

A perda dessas características poderia afetar o desempenho do parasitoide a campo, como a capacidade de dispersão, busca do hospedeiro e, consequentemente, eficiência do controle de *Spodoptera frugiperda*. Estudos a campo precisam ser realizados comparando a nova linhagem introduzida (LV) com a linhagem mantida no laboratório (LB) para comprovar esta hipótese. Além disso, estudos moleculares detalhados utilizando *primers* específicos e diferentes enzimas de restrição poderiam ser realizados para determinar a variabilidade genética das linhagens.

A obtenção de biótipos de diferentes zonas geográficas permite introduzir novos indivíduos na linhagem estabelecida em laboratório e assim aumentar a base genética dessa linhagem. No entanto, os procedimentos para realizar a importação de um agente de controle biológico ao Brasil implicam um grande esforço e disposição de tempo. Assim, é importante realizar estudos constantes de controle de qualidade da espécie a fim de observar depois de quantas gerações *T. remus* modifica sua biologia e comportamento. Isso possibilitaria tomar medidas rápidas bem como, elucidar os problemas específicos da criação e estabelecer alternativas à metodologia atual.

Uma destas alternativas poderia ser a determinação das características desejáveis ao uso previsto dos insetos, por exemplo, ao controle biológico em campo e, dessa forma, adaptar os procedimentos de criação, bem como, manter os biótipos separadamente e promover cruzamentos programados para incrementar variabilidade. Desse modo, a LV considera-se um importante componente de variabilidade populacional.

Além disso, estudos de tolerância de temperatura e umidade relativa da LV em relação à LB poderiam ajudar a esclarecer conceitos da biologia do parasitoide

em campo. Assim, o estudo da LV gera uma importante contribuição ao conhecimento do controle biológico de *S. frugiperda*.

Apesar da LB apresentar menor vigor e qualidade do que a LV, *T. remus* é um parasitoide com um elevado potencial para controle de espécies de *S. frugiperda* tal como já vem sendo observado em países da Ásia e América Latina, destacando-se a importância em se realizar pesquisas que envolvam melhorias no sistema de criação massal e exploração dessas informações em campo.

Devido à falta de estudos sobre a criação massal de *T. remus*, o presente estudo resulta, além da aquisição da nova linhagem de *T. remus*, e na melhora do conhecimento para avaliação da qualidade e das interações parasitoide-hospedeiro que contribuem com conhecimentos úteis na implantação de programas de controle biológico da lagarta-do-cartucho.