UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

TÉCNICAS DE CRIAÇÃO EM LABORATÓRIO E DISPERSÃO DO PARASITOIDE DE PUPAS *Trichospilus diatraeae* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) NO CAMPO

BRUNO ZACHÉ

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP–Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia (Proteção de Plantas)

BOTUCATU-SP
Dezembro – 2012

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

TÉCNICAS DE CRIAÇÃO EM LABORATÓRIO E DISPERSÃO DO PARASITOIDE DE PUPAS *Trichospilus diatraeae* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) NO CAMPO

BRUNO ZACHÉ
Biólogo

Orientador: Prof. Dr. Carlos Frederico Wilcken
Co-Orientador: Dr. Leonardo Rodrigues Barbosa

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP–Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia (Proteção de Plantas)

BOTUCATU-SP
Dezembro – 2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Zaché, Bruno, 1981-
Z15t Técnicas de criação em laboratório e dispersão do parasitóide de pupas *trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: eulophidae) no campo / Bruno Zaché. - Botucatu : [s.n.], 2012
ix , 112 f.: il., color, grafs.,tabs.

Tese(Doutorado)- Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2012
Orientador: Carlos Frederico Wilcken
Co-orientador: Leonardo Rodrigues Barbosa
Inclui bibliografia

1. Inseto parasito - Armazenamento. 2. Parasitóides. 3. *Hymenoptera*. 4. Pragas - Controle biológico. I. Wilcken,Carlos Frederico. II. Barbosa, Leonardo Rodrigues. III. Universidade Estadual Paulista."Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agronômicas. IV. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS

CAMPUS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: **TÉCNICAS DE CRIAÇÃO EM LABORATÓRIO E DISPERSÃO NO CAMPO DO PARASITÓIDE DE PUPAS *Trichospilus diatraeae* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE)**

ALUNO: BRUNO ZACHÉ

ORIENTADOR: PROF. DR. CARLOS FREDERICO WILCKEN
COORIENTADOR: DR. LEONARDO RODRIGUES BARBOSA

Aprovado Pela Comissão Examinadora

PROF. DR. CARLOS FREDERICO WILCKEN

PROFA. DRA. REGIANE CRISTINA O. DE FREITAS BUENO

PROF. DR. VALMIR ANTONIO COSTA

PROF. DR. LUÍS CLÁUDIO PATERNO SILVEIRA

PROF. DR. JOSÉ COLA ZANÚNCIO

Data da Realização: 10 de dezembro de 2012.

São Miguel Arcanjo, protegei-nos na luta para que não pereçamos no tremendo juízo.

A sabedoria da natureza é tal que não produz nada de supérfluo ou inútil.

"Nicolau Copérnico"

Dedico esta tese

A Deus senhor de toda vida, minha esposa Ronelza meu amor, pelo companheirismo e compreensão durante estes anos de luta, aos meus pais, Ilzolina e Volmir, pelas orações, apoio, amor incondicional e estarem sempre ao meu lado sem medir esforços para este objetivo, a minha irmã Graziella e meu irmão Leonardo, meu querido sobrinho Vitor Enzo, minha Vó Carmelina, e a todos que de alguma maneira contribuíram a está caminhada.

AGRADECIMENTOS

A Deus por estar sempre presente em minha vida e me dar forças para lutar sempre.

À Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" – UNESP, Campus de Botucatu.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Carlos Frederico Wilcken, pela confiança, compromisso, respeito pela pesquisa e apoio para a realização e conclusão deste trabalho.

Ao, Dr. Leonardo Rodrigues Barbosa, pelos ensinamentos durante nossa convivência, pela paciência e por ter aceitado me co-orientar.

Ao professor Wellington Campos Garcia por me ensinar o que era entomologia, todos os ensinamentos e por acreditar no meu trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Dr Fernando Luis Cônsoli ESALQ e a Doutoranda Aline Guidolin pela ajuda na análise de presença de bactérias endossinbiontes.

À Profª. Drª. Célia Regina Lopes Zimback, pelo auxílio na análise geoestatística.

A Fazenda Manto Verde e o Engenheiro responsável Valieri pela concessão da área para realização do experimento de dispersão.

A todos os professores do Departamento de Produção Vegetal / Defesa Fitossanitária, pelos ensinamentos.

Ao Drº Elias Chama e a Margarida por controlarem minha pressão, e estarem sempre prontos a ajudar.

Aos funcionários do Departamento de Produção Vegetal/Defesa Fitossanitária em especial ao Sr. Domingos, Fátima, Nivaldo, Bea, Dinha, Samuel pela disposição em ajudar e convivência.

Aos colegas do Laboratório de controle biológico de pragas florestais (LCBPF), em especial Everton, Natália, Adriane, Paulinha, Mário, Murici, Thaíse, Múmia, Frotinha, Fernanda e Isabeli pelos momentos de convivência no trabalho, amizade e também pelos momentos de descontração.

À Sr Robson e Dona Auxiliadora (in memorian) que me acolheram com tanto amor e que estão sempre presentes.

A mimha irmã Grazy, meu irmão Leonardo, mimha cunhada Hanneke e meu sobrinho Vitor Enzo pelo carinho e apoio.

Ao minha mãe Ilzolina H. R. Zaché e meu pai Volmir Zaché por serem grandes exemplos na minha vida e nunca me deixarem desistir.

E a minha esposa Ronelza, dona do meu coração, por sempre me incentivar a alcançar meus sonhos.

MUITO OBRIGADO!

SUMÁRIO

Página

RESUMO..... 01

SUMMARY..... 03

1. INTRODUÇÃO..... 05

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... 08

2.1 Parasitoides..... 08

2.2 Endoparasitoide *Trichospilus diatraeae* 09

2.3 Criações de insetos em laboratório..... 12

2.4 Dispersão de insetos..... 14

CAPÍTULO 1. Densidades de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) e desenvolvimento sobre pupas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)

Resumo..... 17

Abstract..... 18

Introdução..... 19

Material e Métodos..... 20

Resultados e Discussão..... 21

Referências Bibliograficas..... 25

CAPÍTULO 2. Fontes de alimento e privação de alimento: aspectos biológicos e desenvolvimento de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae)

Resumo..... 31

Abstract..... 32

Introdução..... 33

Material e Métodos..... 34

Resultados e Discussões..... 35

Referências Bibliograficas..... 40

CAPÍTULO 3. Desempenho do parasitoide *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) sob diferentes tempos de exposição utilizando como hospedeiro *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)

Resumo..... 47
Abstract..... 48
Introdução..... 49
Material e Métodos..... 49
Resultados e Discussões..... 50
Referências Bibliograficas..... 55

CAPÍTULO 4. Capacidade reprodutiva de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) sobre pupas de *Spodoptera frugiperda* armazenadas por diferentes períodos a baixas temperaturas

Resumo..... 60
Abstract..... 61
Introdução..... 62
Material e Métodos..... 63
Resultados e Discussões..... 64
Referências Bibliograficas..... 69

CAPÍTULO 5. Armazenamento de fêmeas do parasitoide *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em baixas temperaturas

Resumo..... 75
Abstract..... 76
Introdução..... 77
Material e Métodos..... 77
Resultados e Discussões..... 79
Referências Bibliograficas..... 82

CAPÍTULO 6. Distribuição espacial do parasitoide *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) sobre pupas de *Melanolophia consimilaria* (Lepidoptera: Geometridae) em plantação de eucalipto

Resumo..... 85

Abstract..... 86

Introdução..... 87

Material e Métodos..... 88

Resultados e Discussões..... 91

Referências Bibliograficas..... 99

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 103

4. CONCLUSÕES FINAIS..... 104

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 105

RESUMO

O endoparasitoide pupal *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) é parasitoide preferencial da ordem Lepidoptera, e vem sendo utilizado em vários programas de controle biológico. No entanto, a eficiência do controle de pragas com inimigos naturais varia devido aos fatores bióticos e abióticos. O desenvolvimento de técnicas que possibilitem a criação de inimigos naturais em escala comercial é um dos pontos básicos para liberação massal em programas de manejo. O objetivo deste trabalho foi refinar técnicas de criação massal, além de técnicas de armazenamento do parasitoide adulto e dispersão em áreas de cultivo comercial de eucalipto para controle de lagartas desfolhadoras. Os experimentos foram realizados no laboratório de controle biológico de pragas florestais da FCA/UNESP - Campus de Botucatu e na fazenda Manto Verde, Lençóis Paulista SP. Pupas de *S. frugiperda* foram obtidas da criação em dieta artificial, e o parasitoide *T. diatraeae* foi retirado da criação estoque do laboratório. Foram feitos experimentos visando avaliar a melhor densidade de parasitismo nas seguintes relações 1:1, 7:1, 14:1, 21:1, 28:1 e 35:1. Verificou-se que houve interferência intraespecífica positiva até a densidade de 28:1, com taxas de parasitismo e emergência acima dos 90% e progênie total de 269,2 parasitoides se mostrando a melhor densidade para questões de criação massal. Estudos sobre o comportamento dos parasitoides devem incluir a interferência direta do alimento sobre o parasitismo. Foram testados seis tipos de alimentação para fêmeas do parasitoide: mel puro, mel a 10%, hemolinfa, hemolinfa + mel, água destilada e ausência de alimentação como resultado o mel mostrou ser o alimento mais adequado, por propiciar altos níveis de parasitismo, emergência acima de 100% e progênie

total de 264,7 parasitoides. Também foi discutido o melhor tempo de exposição das pupas do hospedeiro alternativo ao parasitoide, sendo testados os tempos de 24, 48, 72 e 96 horas. Os tempos de exposição de 72 e 96 horas apresentaram maior taxa de emergência, (acima de 90%), progênie total acima de 280 parasitoides, mostrando-se os melhores tempos para fins de implementação de um sistema de criação massal. Também foi medida a influência do armazenamento do hospedeiro em baixas temperaturas sobre características biológicas do parasitoide, sendo testadas pupas armazenadas a cinco, oito, 10 e 25ºC pelos períodos de um, cinco, oito e 10 dias. Quanto ao armazenamento das pupas do hospedeiro podemos concluir que as características biológicas do parasitoide foram afetadas negativamente com o decorrer do armazenamento em todas as temperaturas. Continuando estudos sobre armazenamento se avaliaram as características biológicas de fêmeas adultas de *T. diatraeae* quando armazenados em baixas temperaturas de 10, 18, 22 e 25ºC, pelos períodos de armazenamento de um, cinco, oito e 10 dias; como resultado podemos perceber que o armazenamento das fêmeas adultas não resultou em diferença estatística entre as temperaturas e os períodos de armazenamento, mostrando assim que o parasitoide pode ser armazenado a baixa temperatura por diferentes períodos de armazenamento sem custos biológicos. Para medição da dispersão de *T. diatraeae* 50.000 parasitoides foram liberados na área central do experimento sendo as avaliações realizadas nas quatro direções cardeais (norte, sul, leste, oeste) para pupas e nas quatro direções colaterais (nordeste, noroeste, sudeste e sudoeste) para número de parasitoides nas armadilhas amarelas em cinco distâncias, em círculos concêntricos a cinco, 15, 30, 60 e 100 m. Foram recolhidas 10 pupas no solo ou presa uma armadilha amarela nos pontos de avaliação. Houve aumento do parasitismo com o aumento da distância do ponto de liberação nas distâncias acima de 30 metros, com média de 24,8%, enquanto na maior distância houve a maior taxa de parasitismo 37,9% para as pupas. Quanto ao número de insetos nas armadilhas não houve diferença estatística entre as direções colaterais sudeste e nordeste em nenhuma distância, enquanto a região sudoeste teve maior número de insetos na região sudeste. O vento se mostrou o principal fator responsável pela dispersão destes parasitoides nestas condições.

Palavras-chave: Armazenamento, Criação massal, Controle biológico, Eulophidae, Dispersão

MASS REARING, STORAGE AND DISPERSION OF PUPAE PARASITOID *Trichospilus diatraeae* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE). 2012. 113p. Thesis (Doctorate in Agronomy/Plant Protection) – College of Agronomic Sciences, São Paulo State University(UNESP).

Author: BRUNO ZACHÉ
Adviser: CARLOS FREDERICO WILCKEN
Co-Adviser: LEONARDO RODRIGUES BARBOSA

ABSTRACT

The pupal endoparasitoid *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) is a preferential parasitoid of the order Lepidoptera, and is utilized in several biological control programs. However, the efficiency of pest control through natural enemies varies due to biotic and abiotic factors. The development of techniques that enable the commercial-scale cultivation of natural enemies is one of the basic points for mass release in management programs. The present work aims to refine techniques for mass rearing and storage of the alternative host *Spodoptera frugiperda* and for storing and dispersing the adult parasitoid to control defoliating caterpillars in commercial eucalyptus-production areas. The experiments were completed in the Laboratory for Biological Control of Forest Pests at FCA/UNESP - Botucatu Campus and at the farm Manto Verde in Lençois Paulistas, Sao Paulo state, Brazil. *S. frugiperda* pupae were raised on an artificial diet, while the parasitoid *T. diatraeae* was removed from the breeding stock of the laboratory. The experiment sought to evaluate the optimum parasitism density in the following ratios 1:1, 7:1, 14:1, 21:1, 28:1 and 35:1. Positive intraspecific interference was verified up to the density 28:1, with parasitism and emergence rates above 90% and total progeny of 269.2 parasitoids, thus showing the best density for mass production questions to reflect positively on biological characteristics. Studies on parasitoid behavior must include direct interference of diet in parasitism. Six feed types were tested on parasitoid females: pure honey, 10% honey, hemolymph, hemolymph + honey, distilled water and absence of food. Honey was shown to be the most suitable diet, by providing high levels of parasitism, emergence above 100%, total progeny of 264.7 parasitoids, positively interfering in the biology of these insects. Also discussed was the optimum exposure time of alternative host pupae to parasitoid, tested at 24 hours, 48 hours, 72 hours and 96 hours. The greatest

emergence rate (above 90%) and total progeny (above 280 parasitoids) occurred at 72- and 96-hour moments, thus showing these exposure times superior for implementing a mass production system. The influence of host storage at low temperatures on parasitoid biological characteristics was tested by storing pupae at five, eight, 10 and 25ºC for periods of one five, eight and 10 days. From storage of alternative host pupae, we can conclude that parasitoid biological characteristics degrade as storage time elapses, at all temperatures. Continuing storage studies in this experiment evaluated the biological characteristics of *T. diatraeae* females when stored at low temperatures of 10, 18, 22 and 25ºC, for one, five, eight and 10 days; the result demonstrates that there was no statistical difference among the storage temperatures in relation to the storage periods, showing that the parasitoid can be stored at low temperatures for different periods without losing biological characteristics. To measure the dispersal of the parasitoid *T. diatraeae* 50,000 parasitoids were released into a central experimental area and evaluated in the four cardinal directions (north, south, east and west) for the pupae and in four collateral directions (northeast, northwest, southeast and southwest) for the number of parasitoids in yellow traps at five distances, in concentric circles, at five, 15, 30, 60 and 100 m. Parasitism was increased in direct proportion with the distance from the release point at distances above 30 meters, with mean of 24.8%, with the highest parasitism rate (37.9%) at the greatest distance. The number of insects in the traps did not differ statistically between the southeast and northeast collateral directions at any distance, with the higher number of insects in the southeast region. The wind proved to be the main factor responsible for the dispersion of these parasitoids in these conditions.

Keywords: Storage, Biological control, Mass rearing, Eulophidae, Dispersal.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A restrição do crescimento populacional de insetos é um dos preceitos do manejo integrado de pragas, sendo que controle biológico é preconizado como tática importante para manter pragas abaixo do limiar de dano econômico (CULLEN et al., 2008; JONSSON et al., 2008). No entanto, a eficiência do controle de pragas com inimigos naturais varia devido aos fatores bióticos e abióticos (ANDRADE et al., 2009).

O desenvolvimento de técnicas que possibilitem a criação de inimigos naturais em escala comercial é um dos pontos básicos para o controle biológico. Dentre os principais inimigos naturais, parasitoides têm sido avaliados para o controle de pragas agrícolas e florestais. O sucesso de parasitoides implica na compatibilidade com seus hospedeiros (STRAND, 2008). Além da produção massal, hospedeiros alternativos permitem compreender a habilidade do inimigo natural em controlar a população de pragas (SOARES et al., 2007).

A facilidade de criação de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) em dieta artificial, e seu curto ciclo de vida, tem a tornado um forte candidato como hospedeiro alternativo para criação massal de parasitoides em vários programas de controle biológico. Novos estudos vêm sendo realizados visando contribuir para o melhor entendimento sobre a biodinâmica populacional do hospedeiro e do parasitoide.

Parasitoides são importantes agentes reguladores de populações de insetos de diferentes ordens (PENNACCHIO & STRAND, 2006). A maioria dos parasitoides

pertence às ordens Hymenoptera e Diptera com, aproximadamente, 50.000 espécies descritas de himenópteros parasitoides (VAN DRIESCHE & BELLOWS, 1996). Os parasitoides podem ser endoparasitoides ou ectoparasitoides; idiobiontes ou coinobiontes; solitários ou gregários; primários ou hiperparasitoides; especialistas ou generalistas, com potencial para o controle biológico (NOYES, 2003) por meio de liberações inundativas (PEREIRA et al., 2008) para regular populações de insetos praga em culturas agrícolas e florestais (DOGANLAR & MENDEL, 2007).

O endoparasitoide pupal *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) parasita e se desenvolve em diversos hospedeiros (PARON & BERTI-FILHO, 2000), causando a morte desses ao final do seu desenvolvimento (BITTENCOURT & BERTI-FILHO, 2004). *T. diatraeae* tem sido estudado como agente potencial no controle biológico de pragas da cana-de-açúcar, milho e algodão em diversos países da África, Ásia e Américas (BOUCEK, 1976), e apesar de exótico esse parasitoide já foi encontrado em estados da região Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste do Brasil e registrado em pupas de Lepidoptera das famílias: Arctiidae (PARON & BERTI FILHO, 2000; ZACHÉ et al., 2012a), Oecophoridae (OLIVEIRA et al., 2001), Crambidae (CHERIAN & MARGABANGHU, 1942), Noctuidae (ETIENNE & VIETTE, 1973; ZACHÉ et al., 2012b), Pyralidae, (ETIENNE & VIETTE, 1973; BOUCEK, 1976; BENNETT et al., 1987; ZACHÉ et al., 2010b; MELO et al., 2012), Nymphalidae (BOUCEK, 1976), Geometridae (PEREIRA et al., 2008; BENNETT et al., 1987; ZACHÉ et al., 2010a), Pieridae (TORRES-BAUZA, 1994), Riodinidae (ZACHÉ et al., 2011a) e Lymantriidae (ZACHÉ et al., 2011b).

Para o sucesso de criações de inimigos naturais em larga escala para programas de controle biológico, devem ser considerados vários fatores entre eles a densidade de fêmeas por hospedeiro, o tempo de exposição do hospedeiro ao parasitismo, a alimentação oferecida ao parasitoide, a temperatura ideal para conservação dos parasitoides e do hospedeiro sem perda da capacidade reprodutiva dos parasitoides, e conhecer a capacidade de dispersão para poder determinar o número de pontos de liberação por unidade de área, pois a maior ou menor eficiência de controle da praga-alvo depende desse número (PARRA, 1997).

A densidade de fêmeas por hospedeiro afeta a capacidade de parasitismo (SAMPAIO et al., 2001), o número de parasitoides emergidos (PARON et al., 1998), a razão sexual dos descendentes (CHOI et al., 2001), e a duração do ciclo (SILVA-

TORRES & MATTHEWS, 2003). Essa relação não pode ser muito elevada (superparasitismo) nem muito baixa, pois ambas as situações poderão afetar a eficiência dos parasitoides, comprometendo o desempenho reprodutivo (PARRA, 1997).

Estudos envolvendo o comportamento de parasitoides devem incluir a interferência direta da alimentação do parasitoide adulto sobre sua capacidade de parasitismo. O entendimento das exigências nutricionais é importante para maximizar a eficiência dos inimigos naturais no controle biológico (FUCHSBERG et al., 2007).

O desenvolvimento de parasitoides gregários ainda está intimamente associado ao tempo de exposição ao hospedeiro, já que este fator influencia no tempo de desenvolvimento e tamanho da prole (CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO, 1995).

A possibilidade de conservação de hospedeiros em baixas temperaturas, sem perda da capacidade reprodutiva dos parasitoides pode aumentar ou controlar a produção desses agentes de controle biológico (PEREIRA et al., 2009).

O objetivo do aprimoramento da criação massal de um parasitoide é a liberação em campo, porém para que o parasitoide possa realizar controle efetivo, é necessário se conhecer a capacidade de dispersão. Assim, o objetivo desse trabalho foi estudar o impacto de técnicas de criação massal, armazenamento a baixas temperaturas, e dispersão sobre os parâmetros reprodutivos *T. diatraeae*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PARASITOIDES

Os parasitoides são organismos cujo desenvolvimento imaturo ocorre de forma parasítica, utilizando outros insetos como fonte de alimento. Diferente dos hospedeiros dos parasitas, os hospedeiros dos parasitoides não sobrevivem ou são incapazes de gerar progênie (VINSON & IWANTSCH, 1980). Parasitoides apresentam desenvolvimento peculiar, formando um grupo de grande sucesso evolutivo, sendo encontrados em maior número na ordem Hymenoptera, que representa 20% das espécies da classe Insecta (PENNACCHIO & STRAND, 2006). Parasitoides atacam diversos tipos de hospedeiros nos mais variados habitats, explorando hospedeiros em diferentes estágios de desenvolvimento e utilizando estratégias adaptadas às diferentes associações hospedeiras (BOIVIN, 2010; PENNACCHIO & STRAND, 2006). Esta diversidade na capacidade de exploração hospedeira se dá pelo desenvolvimento de estratégias eficientes para a localização e seleção de hospedeiros (SCHRÖDER & HILKER, 2008), assim como para a sua utilização (JERVIS et al. 2008).

Assim, parasitoides podem ser agrupados quanto ao estágio de desenvolvimento do hospedeiro (parasitoide de ovo, larva/ninfa, pupa ou adulto), quanto à sua localização (interna ao hospedeiro – endoparasitoide; externa ao hospedeiro – ectoparasitoide) e interação com o hospedeiro (idiobionte ou cenobionte) (MACKAUER & SEQUEIRA, 1993; QUICKE, 1997).

As interações coevolutivas entre o parasitoide e seus hospedeiros, são vitais para a manutenção de ambos. Certamente o hospedeiro e o parasitoide devem ter evoluído para superar ou reduzir as defesas dos hospedeiros e as estratégias de sobrevivência dos parasitoides. A coevolução resulta no aumento da especialização do parasitoide e em um indivíduo mais altamente adaptado, utilizando certas estratégias que devem estreitar muito o seu nicho de exploração, com o resultado potencial que outras espécies de parasitoides possam evoluir e coexistir. Os caminhos da vida dos parasitoides podem resultar na mudança da distribuição dos hospedeiros, comportamento, socialidade, morfologia e tempo de emergência (PRICE, 1975).

2.2 ENDOPARASITOIDE *Trichospilus diatraeae*

Eulophidae é a maior família de Chalcidoidea, com 4.472 espécies descritas em 297 gêneros (NOYES, 2003). Em um grupo tão grande, diversos hábitos de vida ocorrem em Eulophidae, parasitam ovos, larvas, pupas ou adultos; podem ser endoparasitoides ou ectoparasitoides; primários ou hiperparasitoides; solitários ou gregários; idiobiontes, cenobiontes; especialistas ou generalistas. Apesar do grau de especificidade ser variável, Eulophidae é a terceira família de Chalcidoidea mais utilizada no controle biológico (NOYES, 2003).

Trichospilus Ferrière, 1930 é um pequeno gênero da família Eulophidae e tribo Eulophini, com oito espécies (UBAIDILLAH, 2006). Das oito espécies desse gênero, três (*Trichospilus boops* Boucek; *Trichospilus ferrierei* Boucek; *Trichospilus vorax* Boucek) foram encontradas somente na África e uma (*Trichospilus lutelineatus* Zhejiang) na China (BOUCEK, 1976). Duas novas espécies, *Trichospilus striatus* Ubaidillah e *Trichospilus politus* Ubaidillah foram descritas para Java, Sulawesi e Indonésia

(UBAIDILLAH, 2006). *Trichospilus pupivora* Ferrière ocorre amplamente nas regiões tropicais e subtropicais em todo o mundo (BOUCEK, 1976; BENNETT et al., 1987).

Trichospilus diatraeae foi descrita por Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), que utilizaram exemplares emergidos de pupas de *Diatraea venosata* Walker (Lepidoptera: Crambidae) provenientes do sul da Índia. Os adultos de *T. diatraeae* diferem de *T. pupivora*, espécie-tipo, por serem mais claros e mais largos, além de distinguirem-se também na medida dos artículos antenais, na escultura do escutelo, na variação do número e disposição de espinhos e nos tufos de cerdas nas asas (CHERIAN & MARGABANDHU, 1942). Outras características morfológicas incluem: o gáster com uma ampla ranhura central e pequenas cerdas marginais; e tufos de cerdas nas asas anteriores, próximo ao estigma (BOUCEK, 1976).

A caracterização dos imaturos de *T. diatraeae* foi estudada por meio da dissecação de pupas parasitadas de *D. saccharalis*. Os ovos desse parasitoide têm em média 0,2mm de comprimento, são hialinos, sem esculturações e alongados nas extremidades. O período de incubação dura aproximadamente 24 horas. As larvas de um e dois dias têm em média 0,35mm de comprimento, apresentam cutícula transparente, tornando-se esbranquiçada no estádio seguinte, com segmentação do corpo bem definida. O estágio larval nesse hospedeiro dura de 7 a 8 dias. A pré-pupa tem em média 2,3 mm de comprimento é branca e tem cabeça, tórax e abdome bem definidos. O período de pré-pupa e pupa duram de 9 a 10 dias, respectivamente. A pupa recém-formada apresenta apêndices alares e olhos que são inicialmente de coloração rosácea e, posteriormente, tornam-se vermelhos (PARON, 1999).

Os adultos de *T. diatraeae* são de cor castanho amarelada e com dimorfismo sexual acentuado. As fêmeas possuem o soquete antenal na parte central da cabeça enquanto os machos lateralmente, além disso, a forma do abdome das fêmeas é arredondada e nos machos o abdome é mais estreito (PARON, 1999).

O aparelho bucal das fêmeas de *T. diatraeae* apresenta mandíbulas mais desenvolvidas que dos machos. Suas mandíbulas possuem dentículos mandibulares maiores e músculos mandibulares mais fortes nas fêmeas, pois são elas que fazem o orifício para emergirem do hospedeiro. Desta maneira, se não houver fêmeas dentro do hospedeiro os machos não emergem e morrem (BOUNIER, 1975).

T. diatraeae é um parasitoide polífago, gregário, sendo principalmente primário (BOUCEK, 1976; BOUNIER, 1975). Há registros de *T. diatraeae* parasitando pupas de várias espécies de Lepidoptera. Esse parasitoide já foi multiplicado em pupas do hospedeiro *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae) para ser utilizado no controle de noctuídeos pragas de algodão em Madagascar (África) (BOURNIER, 1975). *T. diatraeae* foi encontrado parasitando *Chilo sacchariphagus sacchariphagus* (Bojer, 1856) (Lepidoptera: Crambidae) e *Sesamia calamistis* Hampson, 1910 (Lepidoptera: Noctuidae) nas Ilhas Maurício e Reunião (Oceano Índico), entre 1963 e 1965 (BOUCEK, 1976). Na Índia, foi registrado parasitando *Hypsipyla robusta* (Moore, 1886) (Lepidoptera: Pyralidae), *Sesamia inferens* (Walker, 1856) (Lepidoptera: Noctuidae), *Sylepta derogata* (Fabricius, 1775) (Lepidoptera: Pyralidae), *Pyrausta machaeralis* Walker (Lepidoptera: Crambidae), *Scirpophaga incertulas* (Walker, 1863) (Lepidoptera: Pyralidae) e *Chilo sacchariphagus indicus* Kapur (Lepidoptera: Crambidae) e em Burma foi coletado em pupas de *Pyrausta machaeralis* Walker (Oriente Médio) (BOUCEK, 1976).

No Texas (EUA) foram realizados testes de laboratório com objetivo de determinar a suscetibilidade da broca-do-milho, *Diatraea lineolata* Walker, 1856 (Lepidoptera: Pyralidae), a alguns parasitoides, entre eles *T. diatraeae*, que apresentou 100% de parasitismo sobre as pupas de *D. lineolata* (RODRIGUEZ-DEL-BOSQUE & SMITH, 1989).

Em 1963, *T. diatraeae* foi levado da Índia para Trinidad e Tobago (Antilhas) e para os EUA utilizando como hospedeiros *Diatraea spp.* (Lepidoptera: Pyralidae) (BENNETT et al., 1987). Bordat et al., (1977) realizaram liberações de *T. diatraeae* para controle de pragas de gramíneas no Senegal (África), utilizando o hospedeiro *Chilo suppressalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). Etienne & Viette (1973) e Etienne (1975) relataram *T. diatraeae*, nas Ilhas Reunião e Maurício, parasitando as pragas da cana-de-açúcar *Melanitis leda* L. e *Hedylepta indicata* F. (Lepidoptera: Pyralidae) e *Polydesma umbricola Boisduval* (Lepidoptera: Noctuidae) praga da conífera *Trichopolydesma collutrix*.

Em Comores, Breniére et al. (1985) criaram e liberaram *T. diatraeae* na tentativa de controlar a praga do milho *Chilo partellus swinhoe* (Lepidoptera: Pyralidae). Rodrigues-del-Bosque & Smith Junior (1989) realizaram testes com *T. diatraeae*, nos EUA para controle da broca do milho *D. lineolata* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). BETBEDER-

MATIBET (1990) estudou a criação massal de *Chilo sacchariphagus* para a obtenção de *T. diatraeae*. Torres-Bauza (1994) registrou o parasitoide atacando pupas de *Dismorphia spio* (Lepidoptera: Pieridae) em *Inga vera* (Mimosidae) em Porto Rico (Antilhas).

No Brasil, acredita se que a introdução de *T. diatraeae* teria sido acidental e sua primeira em 1996 em pupas de Arctiidae (Lepidoptera: Lepidoptera) na cidade de Piracicaba no estado de São Paulo (PARON & BERTI FILHO, 2000). Em relação a pragas florestais *T. diatraeae* foi coletado em pupas de *Thyrinteina arnobia* em plantio de eucalipto no estado de Minas Gerais (PEREIRA et al., 2008). Em 2010 foi reportado o parasitismo de *T. diatraeae* em pupas da lagarta desfolhadora do eucalipto *Melanolophia consimilaria* (Walker) (Lepidoptera: Geometridae), uma praga que pupa no solo, e *Hypsipyla grandella* (Pyralidae) praga de mogno *Swietenia macrophylla* (ZACHÉ et al., 2010a; ZACHÉ et al., 2010b), *Euselasia eucerus*, uma espécie da família Riodinidae, e *Sarcina violascens* (Lepidoptera: Limantriidae) (ZACHÉ et al., 2011a; ZACHÉ et al., 2011b). Em 2012 sua ocorrência foi registrada em *Eupseudosoma aberrans* (Lepidoptera: Arctiidae) e *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae) (ZACHÉ et al., 2012a; ZACHÉ et al., 2012b).

O potencial de *T. diatraeae* como agente de controle biológico no Brasil é pouco conhecido. A capacidade reprodutiva de *T. diatraeae* foi estudada em pupas de *D. saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), *Anticarsia gemmatalis* (Hubner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae), *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Heliothis virescens* (Fabricius, 1781) (Lepidoptera: Noctuidae) (PARON e BERTI FILHO, 2000). Todos os hospedeiros testados foram parasitados por *T. diatraeae* e houve emergência de progênie. Apesar de não ter sido observada preferência do parasitoide a uma das espécies de hospedeiro, comparando-se o número de parasitoides emergidos por pupa nas quatro espécies, observou-se que houve menor emergência em *H. virescens* e maior em *S. frugiperda* (PARON & BERTI FILHO, 2000).

2.3 CRIAÇÕES DE INSETOS EM LABORATÓRIO

As criações de insetos podem ser classificadas quanto ao seu tamanho em três categorias: a) criações em pequena escala; b) criações de médio porte; e c) criações massais (PARRA, 2009).

Em criações em pequena escala, como aquelas utilizadas em pesquisas, normalmente são utilizados ambientes controlados e em muitos casos, apenas uma pessoa trabalha na criação, fazendo com que as chances de problemas no decorrer da criação sejam reduzidas. À medida que cresce o número de insetos criados (criações massais) aumentam os problemas de instalações, sanidade, custo, necessidade de automatização, armazenamento e previsão de produção (PARRA, 2007). Em criações massais, atividades rotineiras tomam grandes proporções, fazendo com que se assemelhem àquelas executadas em fábricas. Algumas biofábricas chegam a ter mais de 300 funcionários e produzem milhões de insetos (PARRA, 2009).

Existem diversas definições de criação massal; Finney & Fisher, (1964) definiram criação massal como a produção econômica de milhões de insetos benéficos em uma linha de montagem com o objetivo de produzir, com o mínimo de homens/hora e de espaço, o número máximo de fêmeas férteis no tempo mais curto possível e com um baixo custo. A criação massal de um inseto é uma atividade sistemática, automatizada, em instalações integradas, com o objetivo de produzir um suprimento relativamente grande de insetos para distribuição (PARRA, 2009).

A despeito de particularidades das diversas definições disponíveis na literatura, criações massais servem de suporte a programas de controle biológico e a outros métodos de controle (PARRA, 2009), fazendo com que estes se consolidem como parte fundamental do manejo de pragas. Diversos fatores devem ser considerados em criações massais de insetos e dentre eles, a temperatura apresenta papel fundamental, pois em criações nessas escalas, a relação de insetos produzidos e tempo podem determinar a viabilidade econômica da atividade.

Vários fatores bióticos e abióticos, tais como temperatura, umidade, espécie, tipo, tamanho e dieta do parasitoide influenciam sua capacidade de parasitismo, fecundidade, número da progênie e a determinação da razão sexual de muitas espécies de parasitoides (AKMAN GUNDUZ & GULEL, 2005).

O número de fêmeas do parasitoide, a densidade do hospedeiro e o tempo de exposição ao hospedeiro são também fatores primordiais na avaliação do desempenho do inimigo natural. O conhecimento desses aspectos são importantes na

implementação e eficiência de sistemas de produção massal de parasitoides (HENTZ et al., 1998).

2.4 DISPERSÃO DE INSETOS

A interação entre heterogeneidade ambiental e movimento individual é um aspecto extremamente importante da dinâmica ecológica (TURCHIN, 1998). Portanto, a quantificação dos padrões de movimento dos organismos é a informação necessária para sustentar teorias sobre a dinâmica espacial e gestão população.

Dispersão é uma característica importante da história de vida de insetos, muitas vezes acredita-se ser uma força estabilizadora em sua dinâmica populacional (STEIN et al., 1994). Padrões de dispersão de insetos herbívoros em agroecossistemas têm sido associados a surtos de pragas (KAREIVA, 1982). Por outro lado, os estudos sobre a dispersão de inimigos naturais demonstraram a importância do movimento na eficiência de liberações constantes (SAAVEDRA et al., 1997; MCDOUGALL & MILLS, 1997) e no estabelecimento de insetos introduzido para o controle de pragas (HOPPER & ROUSH, 1993).

Segundo Fernandes (2002), depois de criados ou capturados na natureza, os insetos são liberados em determinado ponto da área de estudo, recapturando-os a diferentes distâncias. O conhecimento da dispersão dos parasitoides é fundamental para se assegurar uma boa distribuição do parasitoide na área desejada; uma vez conhecido o raio efetivo de ação do parasitoide, pode-se determinar o número ideal de pontos de liberação (BOTELHO, 1997).

Clima, tipo de cultura, hospedeiros, predação, uso de agroquímicos e qualidade do parasitoide influem na eficiência da dispersão de parasitoides (ANDOW & PROKRYM, 1991). O clima é, provavelmente, o mais importante destes fatores, já que há um complexo de variáveis meteorológicas afetando o desenvolvimento, emergência, sobrevivência, atividade e fecundidade do parasitoide; dentre os fatores com maior influência situam-se a temperatura e a umidade (KING et al., 1985).

Casos de sucesso e/ou insucesso de parasitoides para o controle de lepidópteros-pragas são referidos por diversos autores. É difícil definir com precisão os fatores intrínsecos e extrínsecos determinantes dos casos de insucesso; vários aspectos podem ser

mencionados incluindo a inadequada “qualidade” do parasitoide criado em laboratório, características do transporte e manipulação, técnicas e intervalo de liberações, densidade liberada, além das condições climáticas no momento da liberação, uso de agroquímicos dentro da cultura. Mas dentre os principais deve se considerar o comportamento de dispersão do parasitoide fator este que pode ser o responsável pelo insucesso de um programa de controle biológico (HASSAN, 1997).

CAPÍTULO 1- Densidades de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) e desenvolvimento sobre pupas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)

(Baseado nas normas do periódico Neotropical Entomology)

RESUMO: Parasitoides podem ser um fator importante na regulação da dinâmica populacional de insetos praga. Estudos envolvendo o comportamento de parasitoides gregários para produção massal evidenciam a interferência direta da densidade de fêmeas sobre as respostas biológicas ao parasitismo. Neste estudo o desenvolvimento de diferentes densidades de *T. diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) foi avaliado sobre pupas de *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Pupas de *S. frugiperda* com 24 horas de idade foram expostas ao parasitismo por fêmeas de *T. diatraeae* com 24 horas de idade nas seguintes relações parasitoide: hospedeiro 1:1, 7:1, 14:1, 21:1, 28:1 e 35:1 com 20 repetições para cada tratamento. A densidade se mostra um fator importante para o desenvolvimento de *T. diatraeae.* Para a densidade de uma fêmea por pupa foi encontrada taxa de parasitismo de 58,2% na densidade sete fêmeas por pupa se obteve taxa de parasitismo de 81,3%. Não houve diferença na taxa de parasitismo nas proporções 14:1; 21:1; 28:1 e 35:1, que foram superiores a 90%. Quanto à emergência a proporção de 1:1 demonstrou a menor taxa, enquanto as densidades de 7 e 35 parasitoides por pupa não diferiram entre si, apresentando baixas taxas de emergência, sendo mais eficientes as densidades de 14:1, 21:1, 28:1, com taxas de emergência acima de 98 %. Quanto ao número de parasitoide emergidos, foi verificado que houve interferência intraespecífica positiva até a densidade de 28:1. Ainda se observou que o período de desenvolvimento de ovo-adulto aumentou com a densidade de fêmeas por pupa.

Palavras chave: Parasitoide de pupa, criação massal, densidade de parasitismo, lagarta do cartucho-do-milho

Different densities *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) and its development on *Spodoptera frugiperda* pupae (Lepidoptera: Noctuidae)

ABSTRACT: Parasitoids can be an important factor in regulating the population dynamic of pest insects. Studies involving the behavior of gregarious parasitoids for mass production have evidenced direct interference of density of females on the biological response to parasitism. In this study the development of different densities of *T. diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) was evaluated on pupae of *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). At 24 hours of age, *S. frugiperda* pupae were exposed to parasitism by *T. diatraeae* females, aged 24 hours, at the following parasitoid-to-host ratios: 1:1, 7:1, 14:1, 21:1, 28:1 and 35:1, respectively, with 20 repetitions for each treatment. Density is demonstrated an important factor for *T. diatraeae* development. The female-per-pupa density of one produced a 58.2% parasitism rate versus 81.3% for a density ratio of seven. There was no difference in the parasitism rate in the proportions 14:1; 21:1; 28:1 and 35:1, which were above 90%. As to emergence a 1:1 proportion the lowest rate, while the densities of 7 and 35 parasitoids per pupa did not differ from each other, presenting low emergence rates, being most efficient at the densities of 14:1, 21:1 and 28:1, with emergence rates above 98 %. The number of emergent parasitoids presented positive intraspecific interference up to a density of 28:1. But it was observed that the egg-adult development period increased with the density of females per pupa.

Keywords: Pupae parasitoid, mass rearing, parasitoid density, fall armyworm

1. INTRODUÇÃO

Estudos sobre a viabilidade do uso de *Spodoptera frugiperda* como hospedeiro alternativo para criação de *Trichospilus diatraeae* vêm sendo realizados visando contribuir para o melhor entendimento sobre a dinâmica entre o hospedeiro e o parasitoide.

A determinação de um hospedeiro alternativo adequado para o desenvolvimento do parasitoide e capaz de sustentar uma criação massal é fundamental para sua produção em laboratório, e uma etapa básica para qualquer programa de controle biológico de pragas, pois possibilita os estudos sobre aspectos biológicos referentes ao parasitoide (PREZOTTI & PARRA 2002).

Para a liberação é necessário que os inimigos naturais em laboratório apresentem qualidade comparável aos encontrados na natureza (PREZOTTI & PARRA 2002). Segundo Clarke e Mckenzie (1992) o controle de qualidade é um dos fatores determinantes para o sucesso de programas de controle biológico, sendo a qualidade total de um organismo definida como a sua capacidade de controlar a praga após a liberação em campo.

Trichospilus (FERRIERE, 1930) é um gênero com poucas espécies da família Eulophidae da tribo Eulophini (CHERIAN & MARGABANDHU, 1942). *Trichospilus diatraeae* é um parasitoide de pupas, gregário, polífago, principalmente primário e preferencialmente de insetos da ordem Lepidoptera (BOUCEK, 1976).

Por ser um parasitoide gregário, o número de fêmeas que ovipositam em uma pupa torna-se um dos aspectos que devem ser levados em consideração, pois pode afetar drasticamente a quantidade e a qualidade da progênie. A relação adequada entre o número de parasitoides por hospedeiro pode variar de acordo com a espécie, a idade e o tempo de exposição do hospedeiro (FARIA et al., 2000). Segundo Parra (1997), esta relação não pode ser muito elevada nem muito baixa, pois ambas as situações poderão ocasionar deficiências nos parasitoides, comprometendo o desempenho.

Parasitoides normalmente apresentam certa plasticidade para a exploração dos recursos alimentares, o que certamente leva ao desenvolvimento de adultos de tamanho e aptidão reprodutiva distintos (CÔNSOLI & VINSON, 2009).

Portanto, para ampliar os conhecimentos sobre *T. diatraeae* visando o estabelecimento de criações de insetos em grande escala para utilização em programas de controle biológico, o

objetivo deste trabalho foi determinar a densidade ideal de fêmeas de *T. diatraeae* por pupa do hospedeiro alternativo *S. frugiperda*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Indivíduos de *T. diatraeae* foram obtidos de pupas de *Iridopsis* sp. (Lepidoptera: Geometridae) coletados em campo no estado de Minas Gerais e multiplicados em pupas de *Spodoptera frugiperda*. Fêmeas desse parasitoide foram mantidas em tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro e 8,5 cm de comprimento) vedados com tecido tipo "voil" e alimentados com gotículas de mel puro. Pupas de *S. frugiperda* com 24 a 48 horas de idade foram expostas ao parasitismo por 72 horas para a multiplicação do parasitoide. Após esse período, as pupas parasitadas foram individualizadas em tubos de vidro, acondicionadas em bandejas plásticas em sala climatizada à 26±2ºC, UR de 70 ± 10% e fotofase de 12 h até a emergência dos adultos, conforme metodologia de Zaché et al. (2010).

Para realização do bioensaio pupas de *S. frugiperda* com 24h obtidas da criação em dieta artificial, com 24 horas de idade, foram expostas ao parasitismo por fêmeas de *T. diatraeae* com 24 horas de idade nas seguintes proporções parasitoide: hospedeiro: 1 : 1, 7 : 1, 14 : 1, 21 : 1, 28 : 1 e 35: 1, com 20 repetições para cada tratamento. As pupas foram selecionadas com peso entre 0,280g e 0,340g para evitar variação na biomassa disponível do hospedeiro. Após 72 horas em contato com as pupas, as fêmeas de *T. diatraeae* foram retiradas dos tubos e os hospedeiros individualizados e mantidos em sala climatizada a 26 ± 2ºC UR de 70 ± 10 % e fotofase de 12 h até a emergência dos adultos do parasitoide. Para determinar a taxa de mortalidade natural dos lepidópteros, 20 pupas não parasitadas foram mantidas nas mesmas condições descritas anteriormente.

A duração do ciclo de vida (ovo-adulto), porcentagem de parasitismo, razão sexual (rs=n.º♀/ n.º ♂+♀), o número de parasitoides emergidos e o número de imaturos que não completaram seu desenvolvimento foram avaliados. O sexo dos adultos foi determinado baseado nas características morfológicas da antena e do abdome de *T. diatraeae* (PARON, 1999). O delineamento estatístico utilizado para avaliar os parâmetros dos experimentos foi inteiramente casualizado. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade para os dados

paramétricos. Os dados não paramétricos foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As taxas de parasitismo variaram sensivelmente à medida que a densidade variou. Na densidade de 1:1, foi encontrada taxa de parasitismo de 58,2%, enquanto na densidade de 7:1 a taxa de parasitismo foi de 81,3%. Para as densidades 14, 21, 28, 35:1. Não houve diferença significativa na taxa de parasitismo superando os 90% e chegando a 100% nas densidades mais altas (Figura 1). Quando a probabilidade da fêmea do parasitoide encontrar outro hospedeiro é menor que a probabilidade de ganhar uma competição com o primeiro ocupante do hospedeiro, é sempre mais vantajoso aceitar o primeiro hospedeiro encontrado (BRODEUR & BOIVIN, 2004) e, consequentemente, aumenta a probabilidade da ocorrência do superparasitismo. Isto possivelmente ocorreu neste estudo, em que foram utilizadas altas densidades de parasitoides por hospedeiro.

A densidade de uma fêmea por pupa resultou em baixa taxa de emergência com 38,3%, enquanto a densidade de 7:1 apresentou emergência de parasitoides de 80%. Às densidades de 14, 21 e 28:1 com taxas de emergência acima dos 90 %, enquanto a densidade de 35: 1 apresentou emergência reduzida, com 65% de emergência, mostrando tendência de queda com o aumento da densidade. Alguns estudos sugerem que as menores taxas de parasitismo e as maiores taxas de pupas inviáveis são causadas pelo superparasitismo e/ou efeito deletério provocado pela ruptura do tegumento da pupa pelas fêmeas parasitoides (Figura 1) (CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO, 1995).

No tratamento controle houve 100% de emergência de mariposas ocorreu em todas as repetições, enquanto nos demais tratamentos do experimento não houve emergência de adultos de *S. frugiperda*, mesmo naqueles onde não houve a emergência de parasitoide ou foram encontrados imaturos. A inviabilização das pupas ocorreu provavelmente pela capacidade que alguns parasitoides apresentam de injetar toxinas durante a oviposição visando superar a resposta imune por encapsulação do hospedeiro (SCHMID-HEMPEL, 2005), ou seja, a injeção de toxinas pode levar a inviabilização das pupas. Como exemplo de Eulophidae que utiliza essa estratégia, podemos citar *Palmistichus elaeisis*, onde as presas parasitadas por sua

vez, têm seus movimentos reduzidos, pela ação de toxinas paralisantes, injetadas pela fêmea parasitoide durante a oviposição (GODFRAY, 1994).

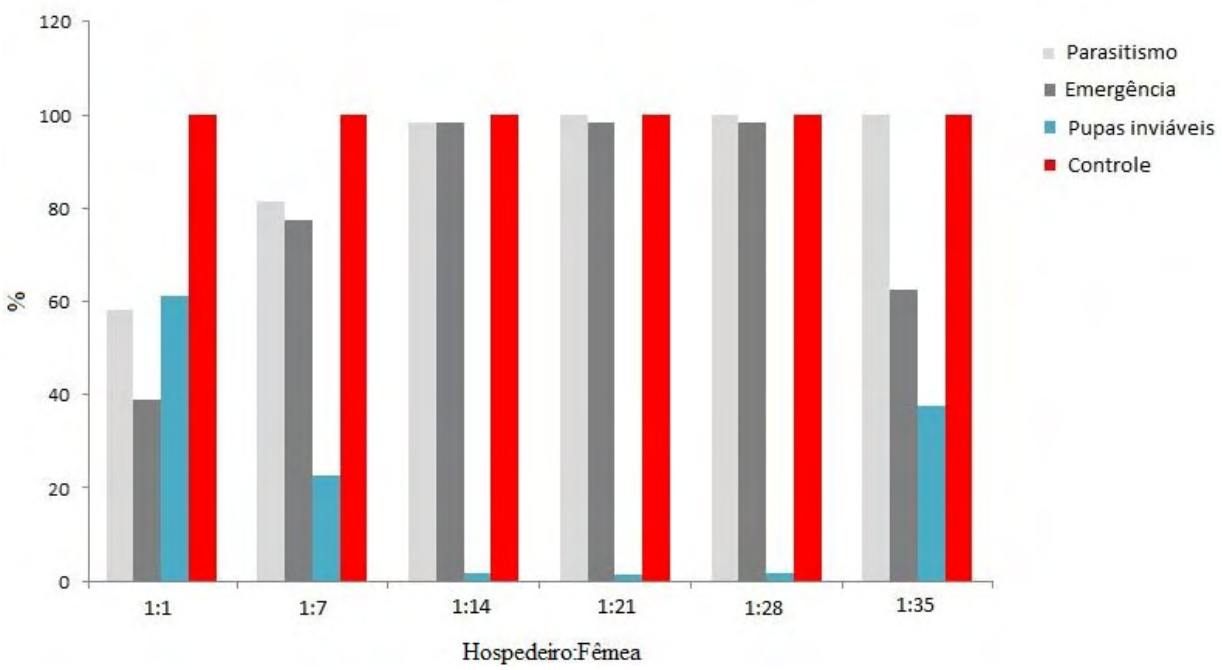


Figura 1. Porcentagem de pupas de *Spodoptera frugiperda* parasitadas, pupas em que houve emergência de parasitoides e número de pupas inviáveis após exposição às densidades de 1, 7, 14, 21, 28 ou 35 fêmeas por pupa. (Temperatura 26ºC ± 2ºC, UR de 70 ± 10 % e fotofase de 12 horas).

Pode-se verificar que houve interferência intraespecífica positiva quanto ao número de parasitoides emergidos até a densidade de 28:1 (Tabela 1), onde atingiu-se o número máximo de descendentes (269,2 indivíduos). Para a densidade de 35:1 o número de descendentes produzidos foi reduzido. O número de parasitoides não emergidos se mostrou bem baixo e não variou dentre as densidade 1, 7, 14, 21, 28: 1 enquanto na densidade de 35:1 apresentou alto índice de parasitoides que não emergiram (136 parasitoides por pupa) (Tabela 2).

Segundo Wylie (1965) nenhuma ou poucas larvas morrem no 1° ínstar, e a maioria chega ao último ínstar. No entanto, quando ocorre o superparasitismo, poucos parasitoides eclodem devido à falta de recursos fornecidos pelo hospedeiro e, quando eclodem, apresentam

tamanho reduzido. Em contrapartida, o número adequado de parasitoides por hospedeiro pode aumentar as probabilidades de sobrevivência da progênie de um parasitoide, pois diversos ovos podem esgotar a resposta celular imune de um hospedeiro (SAGARRA et al. 2000).

Outro aspecto a se considerar é o limite de capacidade do hospedeiro (alimento disponível) para suportar os ovos do parasitoide, que pode ser responsável pela diminuição da prole com a maior densidade de fêmeas de *T. diatraeae*. Cabe salientar que o alimento é o principal fator regulador do número e flutuação das populações de insetos, pois dele dependerá o sucesso das larvas em obter quantidades suficientes de nutrientes, inferindo na aptidão do adulto e consequentemente, na perpetuação da espécie (MUELLER et. al., 2005).

Tabela 1. Número de parasitoides emergidos (NPE), não emergidos (NE) e progênie total (PT) (±EP) de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) por pupa de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) com 1, 7, 14, 21, 28 ou 35 fêmeas de parasitoide por pupa (Temperatura 26ºC ± 2ºC, UR de 70 ± 10 % e fotofase de 12 h).

Densidade	(NPE) [1]	(NE) [1]	(PT) [1]
1:1	31,3 ± 5,2 c	1,4 ± 0,1 d	33,8 ± 4,2 d
7:1	37,3 ± 8,4 c	6,8 ± 2,6 b	41,4 ± 6,3 d
14:1	112,4 ± 9,2 b	5,5 ± 0,4 b	117,6 ± 3,4 c
21:1	256,0 ± 8,5 a	2,4 ± 0,5 c	258,4 ± 6,3 a
28:1	268,5 ± 9,0 a	6,5 ± 0,8 b	269,2 ± 5,1 a
35:1	122,42 ± 21,1 b	13,6 ± 8,3 a	134,3 ± 6,1 b

[1] Médias seguidas por mesma letra (por coluna) não diferem pelo teste de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$).

O período de desenvolvimento de ovo a adulto se alongou com o aumento da densidade (Tabela 2), mostrando que a competição por recurso e espaço ocasionou atraso no desenvolvimento das fases imaturas. Essa tendência à ampliação da duração do desenvolvimento pós-embrionário em função do aumento do número de parasitoides por

hospedeiro pode ocorrer pela competição por alimento, tornando-se um fator de estresse, por decorrência dos efeitos da competição por recursos, juntamente com as alterações químicas que ocorrem no substrato alimentar devido ao metabolismo larval (BUBLI et. al., 1998).

O melhor desempenho de insetos gregários é obtido em uma faixa de densidade particular, ocorrendo declínio acima ou abaixo deste intervalo, devido à indução de condições micro-ambientais não favoráveis ao desenvolvimento destes insetos (SLANSKY & SCRIBER, 1985). O desenvolvimento mais lento de *T. diatraeae* na densidade 35:1 em relação às menores densidades ocorreu provavelmente devido ao superparasitismo. O número de parasitoides presentes em um único hospedeiro foi muito elevado, favorecendo a competição, onde nem o parasitoide e nem o hospedeiro emergiram, o que refletiu na taxa de emergência (Figura 1) e no número de indivíduos não emergidos (Tabela 1).

Tabela 2. Duração do ciclo ovo-adulto (dias) de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) com 1, 7, 14, 21, 28 ou 35 fêmeas por pupa de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Temperatura 26ºC ± 2ºC, UR de 70 ± 10% e fotofase de 12 h.

Densidade Hospedeiro: Parasitoide	Duração ciclo ovo adulto [(1)]	IV
1:1	19,1 ± 0,9 d	18-21
7:1	20,2 ± 0,5 d	18-21
14:1	22,4 ± 0,5 c	18-22
21:1	23,5 ± 0,5 b	19-24
28:1	23,9 ± 0,4 b	20-25
35:1	27,3 ± 1,9 a	26-29

[(1)] Médias seguidas por mesma letra (por coluna) não diferem pelo teste de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$), IV= Intervalo de variação.

Quanto à razão sexual não houve variação para as condições testadas, uma vez que 100% dos indivíduos emergidos foram fêmeas, fato que pode ser explicado pela ocorrência de reprodução partenogenética telítoca. Bactérias do gênero *Wolbachia* e *Cardinium* são

endossimbiontes comumente encontrados nos tecidos reprodutores de invertebrados, sendo conhecidas como “manipuladores da reprodução”, desencadeando diversas alterações reprodutivas, entre as mais comuns à partenogênese telítoca (GHERNA et al., 1991; HURST et al., 1999a; HURST et al., 1999b; WEEKS et al., 2001; IRONSIDE et al., 2003; ZCHORI-FEIN & PERLMAN, 2004; WEEKS & STOUTHAMER, 2004; GOTOH et al., 2007). Testes para presença destas endobactérias, com os “primers” específicos para esses simbiontes foram feitos, para explicação da partenogênese telítoca, mas tiveram resultados negativos. Novos estudos devem ser realizados para melhor entendimento deste fenômeno.

Como conclusão que, para fins de criação massal, as melhores densidades foram de 21: 1 e 28: 1, apresentando maiores taxas de emergência, maior número de parasitoides emergidos e maior progênie total, mostrando-se as melhores densidades para implementação de um sistema de criação.

4. REFERÊNCIAS

BOUCEK Z (1976) The African and Asiatic species of *Trichospilus* and *Cotterellia* (Hymenoptera: Eulophidae). **Bulletin of Entomological Research** 65: 669-681.

BRODEUR J, BOIVIN G (2004) Functional ecology of immature parasitoids. **Annual Review of Entomology** 49: 27-49.

BUBLI OA, IMASHEVA AG & LOESCHCKE V (1998) Selection for knockdown resistance to heat in *Drosophila melanogaster* at high and low larval densities. **Evolution**, 52: 619-625.

CARDOSO D & MILWARD-DE-AZEVEDO EMV (1995) Influência da densidade de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) sobre a capacidade reprodutiva de fêmeas nulíparas de *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae). **Revista Brasileira de Entomologia** 39: 779−786.

CHERIAN MC, MARGABANDHU V (1942) A new species of *Trichospilus* (Hymenoptera: Chalcidoidea) from South India. **Indian Journal of Entomology** 4: 101-102.

CLARKE GM & MCKENZIE LJ (1992) Fluctuating asymmetry as a quality control indicator for insect mass rearing processes. **Journal Economy Entomology** 85: 2045-2050.

CÔNSOLI FL, PARRA JRP (1996) Comparison of hemolymphe and holotissues of different species of insects as diet components for in vitro rearing of *Trichogramma galloi* Zucchi and *T. pretiosum* Riley. **Biological Control** 6: 401-406.

CARON V, MYERS JH, GILLESPIE DR (2010) The failure to discriminate: superparasitism of *Trichoplusia* Hübner by a generalist tachinid parasitoid. **Bulletin of Entomological Research** 100: 255-261.

DORN S, BECKAGE NE (2007) Superparasitism in gregarious hymenopteran parasitoids: ecological, behavioural and physiological perspectives. **Physiological Entomology** 32: 199-211.

FARIA AF, TORRES JB & FARIAS A.M.I (2000) Resposta funcional de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym.: Trichogrammatidae) parasitando ovos de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lep.: Gelechiidae): Efeito da idade do hospedeiro. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil** 29: 85-93.

FERRIERE C (1930) Notes on Asiatic Chalcidoidea. **Bulletin of Entomological Research**, 21: 353-360.

GODFRAY HCJ (1994) Parasitoids, behavioral and evolutionary ecology. Princeton: Princeton University Press, p.473.

GU H, WANG Q, DORN S (2003) Superparasitism in *Cotesia glomerata*: response of host and consequences for parasitoids. **Ecological Entomology** 28: 422-431.

GHERNA RL, WERREN JH, WEISBURG W, COTE R, WOESE CR, MANDELCO L & BRENNER DJ (1991) *Arsenophonus nasoniae* gen. nov.. sp. nov.. the causative agent of the Sonkiller trait in the parasitic wasp *Nasonia vitripennis*. **International Journal of Systematic Bacteriology** 41: 563-565.

GOTOH T, NODA H & ITO S (2007) *Cardinium* symbionts cause cytoplasmic incompatibility in spider mites. **Heredity** 98: 13-20.

HURST GDD, JIGGINS FJ, SCHULENBURG J, BERTRAND D & WEST SA (1999a) Male-killing *Wolbachia* in two species of insect. **Proceedings of the Royal Entomological Society of London Series B** 266: 735-740.

HURST GDD, SCHULENBURG J, MAJERUS TMO, BERTRAND D & ZAKHAROV, IA (1999b) Invasion of one insect species *Adalia bipunctata*. by two different male-killing bacteria. **Insect Molecular Biology** 8: 133-139.

IRONSIDE JE, SMITH JE, HATCHER MJ, SHARPE RG, ROLLINSON D & DUNN AM (2003) Two species of feminizing microsporidian parasite coexist in populations of *Gammarus duebeni*. **Journal of Evolutionary Biology** 16: 467-473.

MULLER LD, FOLK DG, NGUYEN N, NGUYEN P, LAM P, ROSE M R, BRADLEY T (2005) Evolution of larval foraging behavior in *Drosophila* and its effects on growth and metabolic rates. **Phisiological Entomology** 30: 262-269.

PARON MR (1999) **Bioecologia de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Maragabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), endoparasitóide de Lepidoptera.** Piracicaba, SP. USP. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior “Luis de Queiroz, Universidade de São Paulo. Piracicaba.

PARRA JRP (1997) Técnicas de criação de *Anagsta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichograma*, p.121-150. In: ***Trichograma* e o controle biológico aplicado**. Piracicaba, FEALQ, 324p.

PEREIRA FF, ZANUNCIO JC, SERRÃO JE, ZANUNCIO TV, PRATISSOLI D, PASTORI PL (2010) The density of females of *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências** 82: 323-231.

POTTING RPJ, SHELLEN HM, VET LEM (1997) Fitness consequences of superparasitism and mechanism of host discrimination in the stemborer parasitoid *Cotesia flavipes*. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 82: 341-348.

PREZOTTI L & PARRA JRP (2002) Controle de qualidade em criações massais de parasitoides e predadores, p.295-307. In PARRA, J.R.P.; BOTELHO, S.M.; FERREIRA, B.S.C. & BENTO, J.M.S. (eds), **Controle biológico no Brasil: Parasitoide e predadores**. São Paulo, Manole, 635p.

SAGARRA LA, VICENT C, STEWART RK (2000) Mutual interference among female *Anagyrus kamali Moursi* (Hymenoptera: Encyrtidae) and its impact on fecundity, progeny production and sex ratio. **Biocontrol Science and Technology**, v.10, p.239- 244.

SLANSKY JRF & SCRIBER M (1985) Food consumption and utilization. In. **Compreensive Inss Physiol**, Biochem Pharm. Oxford, Pergamon, 162p.

SCHMID-HEMPEL P (2005) Evolutionary ecology of insect immune defenses. **Annual Review Entomology** 50: 529-551.

WEEKS AR, MAREC F & BREEUWER JAJ (2002) A Mite Species That Consists Entirely of Haploid Females. **Science** 292: 2479-2482.

WEEKS AR & STOUTHAMER R (2004) Increased fecundity associated with infection by a cytophaga-like intracellular bacterium in the predatory mite. *Metaseiulus occidentalis*. **Proceedings of the Royal Entomological Society of London Series B** 4: 193-195.

WYLIE HG (1965) Effects of superparasitism on *Nasonia vitripennis* (Walk.) (Hymenoptera: Pteromalidae). **Canadian. Entomology** 97: 326-331.

ZACHÉ B, WILCKEN CF, DACOSTA RR, SOLIMAN EP (2010) *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), a new parasitoid of *Melanolophia consimilaria* (Lepidoptera: Geometridae). **Phytoparasitica** 38: 355-357.

ZCHORI-FEIN E & PERLMAN SJ (2004) Distribution of the bacterial symbiont *Cardinium* in arthropods. **Molecular Ecology** 13: 2009-2016.

CAPÍTULO 2- Fontes de alimento e privação de alimento: aspectos biológicos e desenvolvimento de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae)

(Baseado nas normas do periódico Neotropical Entomology)

RESUMO: O potencial de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) como agente de controle biológico no Brasil é pouco conhecido e, por isso, esta pesquisa avaliou a viabilidade de pupas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) como hospedeiro alternativo. Devido à sua facilidade de criação em dieta artificial esse inseto tem sido utilizado na criação massal de parasitoides em vários programas de controle biológico. Estudos sobre o comportamento dos parasitoides devem incluir a interferência direta do alimento sobre o parasitismo. Pupas de *S. frugiperda*, com 48 horas de idade, foram individualizadas em tubos de vidro e submetidas ao parasitismo em seis tratamentos com mel puro, mel a 10%, hemolinfa, hemolinfa + mel, água destilada e ausência de alimentação. Os parâmetros avaliados foram taxa de parasitismo, emergência, número de parasitoides emergidos, não emergidos, progênie total, duração do ciclo ovo-adulto e razão sexual. Quando alimentado, *T. diatraeae* teve suas taxas de parasitismo e emergência acima de 85%. O número de parasitoides emergidos e a progênie total aumentaram quando *T. diatraeae* foi alimentado com mel puro, com 264 parasitoides emergidos e progênie total de 267 parasitoides. A alimentação teve grande influência na longevidade de *T diatraeae*. Nos tratamentos onde foram oferecidos alimentos açucarados a longevidade foi acima de 18 dias . Porém, no tratamento onde não foi oferecido alimento a longevidade média foi de quatro dias, e no tratamento com oferecimento de água destilada aos parasitoides a longevidade foi de apenas 2,9 dias. O mel mostrou ser o alimento mais adequado, por propiciar altos níveis de parasitismo, emergência, progênie total e longevidade, sendo de fácil aquisição, pouco dispendioso e interfere positivamente na biologia destes insetos.

Palavras chave: Inimigo natural, parasitoide de pupa, Controle biológico, *Spodoptera frugiperda*, Nutrição

Different sources of food and food deprivation: biological aspects and development of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae)

ABSTRACT: The potential of *Trichospilus diatraeae* Cherian&Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) as a biological control agent in Brazil is little known; thus, this research evaluated the viability of pupae of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) as an alternative host since its ease of production on an artificial diet has led to its use in mass cultivation of parasitoids in several biological control programs. Studies on parasitoid behavior must include the direct interference of diet in parasitism. Pupae of *S. frugiperda*, at 48 hours of age, were individualized in glass tubes and submitted to parasitism in six treatments: pure honey, 10% honey, hemolymph, hemolymph + honey, distilled water and absence of food. The parameters evaluated were parasitism rate, emergence, numbers of emerged and non-emerged parasitoids, total progeny, egg-adult cycle duration and sex ratio. When fed, *T. diatraeae* showed parasitism and emergence rates above 85%. The numbers of emerged parasitoids and total progeny increased when *T. diatraeae* were fed pure honey, with 264 emerged parasitoids and total progeny of 267 parasitoids. The diet exerted great influence on *T diatraeae* longevity. In treatments where they were offered sweetened diets, longevity exceeded 18 days. However, in the treatment where food was not offered, the mean longevity was four days, while the distilled water treatment produced parasitoid longevity of only 2.9 days. Honey was demonstrated the most suitable food, by providing high levels of parasitism, emergence, total progeny and longevity, and is easily acquired, inexpensive and interferes positively in the biology of these insects.

Keywords: Natural enemy, parasitoid pupae, Biological control, *Spodoptera frugiperda*, Nutrition

1. INTRODUÇÃO

O potencial de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) como agente de controle biológico no Brasil é pouco conhecido e, por isso, esta pesquisa avaliou a viabilidade de pupas de *S. frugiperda* como hospedeiro alternativo. A facilidade de criação deste inseto em dieta artificial tem permitido seu uso em criação massal de parasitoides em vários programas de controle biológico.

Parasitoides podem ser importantes para a regulação de populações de insetos-praga (UTIDA, 1957). Estudos envolvendo o comportamento de parasitoides (VINSON, 1998) devem incluir a interferência direta do alimento sobre o parasitismo (BERTI & MARCANO, 1991). Dietas artificiais em laboratório para parasitoides adultos variam desde uma simples solução açucarada até alimentos nutricionalmente completos. A complexidade da dieta depende da biologia do parasitoide e do objetivo da criação (HAGEN & BISHOP, 1979).

Exigências nutricionais de insetos adultos variam entre espécies, desde necessidade de se alimentar para o acúmulo de nutrientes durante a fase de larva, até a obtenção de exigências complexas de carboidratos, proteínas, aminoácidos e vitaminas na fase adulta (HOUSE, 1972). O entendimento das exigências nutricionais é importante para maximizar a eficiência dos inimigos naturais no controle biológico (FUCHSBERG et al., 2007).

Grande parte dos parasitoides necessita de fontes de carboidrato e a ausência destas substâncias interfere na fecundidade, longevidade e no forrageamento das fêmeas, o que influencia seu potencial de colonização (TENHUMBERG et al., 2006).

O amadurecimento de ovos da fêmea é dependente deste recurso (RIDDICK, 2007). O néctar representa, em muitos casos, a principal fonte de nutrientes exigidos pela fêmea (LEE et al., 2004). Esses recursos nem sempre estão disponíveis, mas são necessários para a alimentação destes insetos em programas de controle biológico, e, por isto os parasitoides devem ser alimentados antes de sua liberação ou disponibilizar estas fontes de alimento no campo (LEE & HEIMPEL, 2008).

Há insetos que se alimentam de hemolinfa que extravasa do hospedeiro através do ferimento causado pelo ovopositor, sendo esse comportamento conhecido como picada alimentícia (AMALIN et al., 2002).

O objetivo deste experimento foi avaliar a eficiência de *T. diatraeae* alimentado com diferentes fontes de carboidratos, proteínas ou privadas de alimento. Isto complementa os conhecimentos sobre esse inseto, para ser utilizado com sucesso em programas de controle biológico de pragas agrícolas e florestais.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os parasitoides utilizados neste experimento foram obtidos da criação estoque que foi iniciada com adultos coletados de pupas de *Iridopsis* sp. (Lepdoptera: Geometridae) em Minas Gerais e multiplicado em pupas de *S. frugiperda*. Fêmeas deste parasitoide foram mantidas em tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro e 8,5 cm de comprimento) vedados com tecido tipo "voil" e alimentados com gotículas de mel puro. Pupas de *S. frugiperda* com 24 a 48 horas de idade foram expostas ao parasitismo para multiplicação desse parasitoide por 72 horas. Após esse período, as pupas parasitadas foram individualizadas em tubos de vidro, acondicionadas em bandejas plásticas em sala climatizada até a emergência dos adultos, conforme a metodologia adotada para criação (ZACHÉ et al., 2010).

Pupas de *S. frugiperda*, com 24 horas de idade, foram individualizadas em tubos de vidro e submetidas ao parasitismo de 28 fêmeas por pupa, alimentadas em seis tratamentos com mel puro, mel a 10%, hemolinfa, hemolinfa+mel puro, água destilada e ausência de alimento, com 20 repetições. O alimento foi fornecido com pincel, sendo padronizada uma pincelada de alimento por tratamento. Após 72 horas em contato com as pupas, as fêmeas de *T. diatraeae* foram retiradas dos tubos e os hospedeiros individualizados em sala climatizada a 26ºC até a emergência dos adultos desse parasitoide. A mortalidade natural do hospedeiro foi calculada segundo Abbott (1925), nas mesmas condições ambientais do experimento.

A hemolinfa utilizada na alimentação foi retirada diariamente de pupas de *S. frugiperda* com uma seringa, sendo que essas pupas foram descartadas após a retirada da hemolinfa. A contagem do número de parasitoides não emergidos das pupas utilizadas no experimento foi feita por dessecação com bisturi, sob microscópio esteroscópico.

A porcentagem de parasitismo, emergência, razão sexual (rs = n.ºfêmeas/n.ºtotal), número de parasitoides emergidos, número de imaturos que não completaram seu desenvolvimento e a longevidade de *T. diatraeae* foram avaliados.

O delineamento estatístico utilizado para avaliar os parâmetros dos experimentos foi inteiramente casualizado. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade para os dados paramétricos. Os dados não paramétricos foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As taxas de emergência foram acima de 90% nos tratamentos com substâncias açucaradas (mel puro e mel + hemolinfa) (Figura 1), seguidos do tratamento com solução de mel a 10%, também com altos índices de parasitismo e emergência acima dos 80%. Isso corrobora com relatos de que compostos açucarados são importantes para a alimentação de adultos de parasitoides e seus aspectos biológicos (JERVIS et al., 1993).

As taxas de parasitismo e de emergência foram relativamente baixas nos tratamentos água destilada, hemolinfa ou quando não foram alimentadas, não havendo diferença entre os tratamentos (Figura 1). Isto ocorreu para outras espécies de parasitoides, uma vez que a alimentação interfere diretamente no parasitismo e emergência das fêmeas (MEIRELES et al., 2009).

Muitas espécies de parasitoides podem também se alimentar do corpo dos hospedeiros com ingestão de aminoácidos e, devido a isso efetuar um tipo de “predação”, com o adulto do parasitoide se alimentando do hospedeiro de sua prole (JERVIS & KIDD, 1986). Porém, este tipo de alimentação parece ser complementar, não havendo interferência direta nas taxas de parasitismo e emergência.

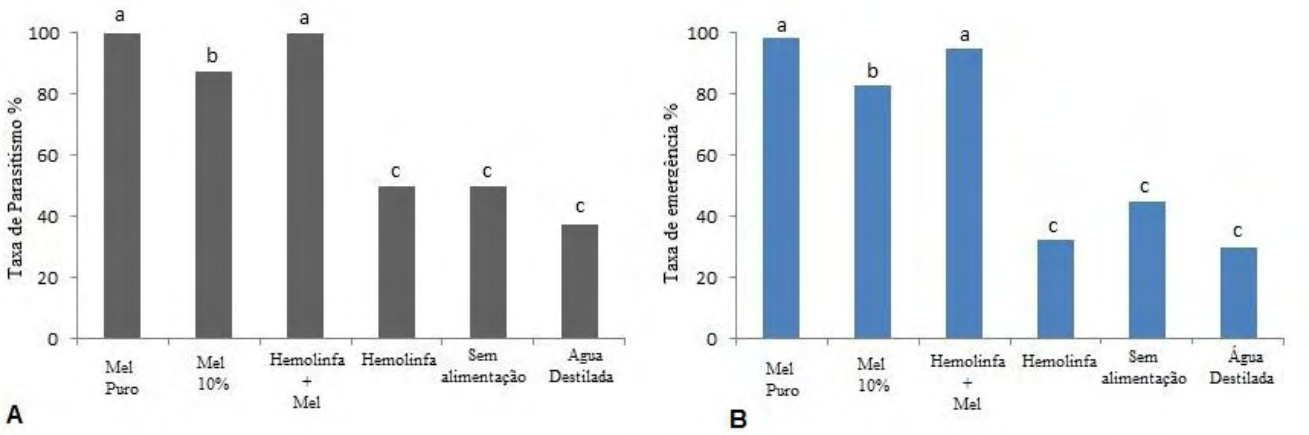


Figura 1. A) Taxas de parasitismo, B) Taxa de emergência de *T. diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *S. frugiperda*, na ausência e presença de diferentes fontes de alimentação complementar (Temp: 26ºC ± 2ºC, UR 60 ± 10 % e fotofase de 12 h). .

O número médio de parasitoides emergidos e progênie total aumentou quando as fêmeas de *T. diatraeae* foram alimentadas com mel puro e mel puro + hemolinfa, com média de emergência de 264 adultos e média da progênie total de 267 parasitoides /pupa com mel puro e média de 242 adultos e média da progênie total de 244 parasitoides /pupa com mel + hemolinfa (Tabela 1).

O tratamento com solução de mel a 10% teve média de 188 parasitoides emergidos e média da progênie total de 191 parasitoides/pupa. Os tratamentos com privação de alimento e hemolinfa pura afetaram o número de parasitoides emergidos (Tabela 1), com valores maiores que o tratamento em que as fêmeas receberam apenas água destilada, sendo esse o pior tratamento, com média da progênie total de 45 parasitoides/pupa.

Pupas de *S. frugiperda* submetidas ao parasitismo de uma fêmea de *T diatraeae* alimentadas com mel a 10%, demonstraram taxas de parasitismo acima dos 95% e progênie total de 105,3 parasitoides (PARON & BERTI-FILHO, 2000).

O número de parasitoides não emergidos não foi afetado pela privação de alimento ou diferentes fontes de alimento, com valores semelhantes entre si. As diferenças no número de parasitoides emergidos pode ser devido ao fato das fêmeas de parasitoides usualmente alimentadas com açúcares apresentaram maior fecundidade e longevidade que outras

alimentadas com água sem açúcares (JERVIS & KIDD, 1986; VAN LENTEREN et al., 1987; GILBERT & JERVIS, 1998). A maturidade sexual de parasitoides está associada à necessidade de ingestão de alimentos ricos em açúcares e aminoácidos, pois fêmeas alimentadas apresentaram um maior número de óvulos maduros em menos tempo (RIDDICK, 2007).

A disponibilidade de nutrientes durante a ovogênese (formação dos ovos) é o principal fator limitante no sucesso reprodutivo dos insetos, mas o acasalamento e atividades fisiológicas, como o vôo, influenciam a disponibilidade dos nutrientes na maioria dos insetos (NATION, 2002). A composição do alimento é importante nesse processo. A formação do ovo necessita de grandes quantidades de proteínas e lipídeos, além de carboidratos, para fornecerem energia para a síntese de componentes do vitelo Água, vitaminas e sais minerais são também, constituintes necessários para uma máxima produção de ovos (GILLOTT, 2005), conforme observado por Jervis et al (1996) para *Aphytis melinus* (Hymenoptera: Aphelinidae), com o consumo de alimento rico em açúcar influenciando o parasitismo, fecundidade e longevidade. A necessidade de açúcar em experimentos de forrageamento, parasitismo e emergência em parasitoides mostraram que a fecundidade e longevidade variam com a qualidade do alimento oferecido (PARON & BERTI-FILHO, 2000).

Tabela 1. Número de parasitoides emergidos, não emergidos e progênie total (± EP) de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Spodoptera frugiperda* com oferecimento de diferentes fontes alimentares para os adultos (Temp: 26ºC ± 2ºC, UR: 60 ± 10 % e fotofase de 12 h).

Tratamento	Número de parasitoides emergidos/pupa [(1)]	Número de parasitoides não emergidos/pupa [(1)]	Progênie total [(1)]
Mel Puro	264,0 ± 10,8 a	4,6 ± 1,9 a	267,4 ± 11,0 a
Solução de mel a 10%	188,6 ± 4,8 b	3,9 ± 0,4 a	191,9 ± 5,3 b
Hemolinfa + Mel puro	242,0 ± 13,1 a	3,5 ± 0,3 a	244,0 ± 12,1 a
Hemolinfa	128,0 ± 11,4 c	4,0 ± 0,9 a	131,8 ± 6,5 c
Sem alimentação	136,1 ± 12,9 c	2,6 ± 0,5 a	141,4 ± 13,4 c
Água Destilada	45,4 ± 7,9 d	4,1 ± 0,8 a	50,4 ± 8,3 d

[(1)] Tratamentos seguidos da mesma letra (na coluna) não diferem entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$).

A longevidade de fêmeas de *T diatraeae*, não alimentadas, alimentadas com água destilada ou só com hemolinfa tiveram baixos resultados, sobrevivendo até seis dias. Para as fêmeas alimentadas com alimentos açucarados foram encontrados valores de longevidade superiores há 18 dias. A menor longevidade de parasitoides foi para aqueles que receberam apenas água destilada como alimento, vivendo apenas 2,9 dias, e demonstrando interferência direta da alimentação e implicação direta na eficiência deste inimigo natural no campo e para criações massais em laboratório (Tabela 2).

Insetos com menor longevidade, normalmente, acumulam nutrientes para a ovigênese durante o estágio larval. Por outro lado, adultos com maiores longevidades, como *T. diatraeae*, apresentam maiores períodos de pré-oviposição e desenvolvimento dos ovários. Neste caso, são necessárias grandes quantidades de alimentos nitrogenados durante a vida para o inicio e manutenção da produção dos ovos (JERVIS et al., 2003).

O efeito do alimento na longevidade de *Trichogramma* sp., mostrou que insetos alimentados com mel puro tiveram maior duração que com mel a 10% ou sem alimento

(BLEICHER & PARRA, 1991). O aumento da longevidade de parasitoides em campo pode reduzir a frequência de liberações (MCDOUGALL & MILLS, 1997). A alimentação de adultos é mais facilmente aplicável e economicamente viável dentre os vários fatores que influenciam a longevidade de espécies de parasitoides. Parasitoides como *Uscana mukerjii* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) foram utilizados como modelo para verificar o impacto do mel como alimento. Fêmeas acasaladas apresentaram longevidade média de 5,2 dias com mel e 2,1 dias sem mel e fecundidade uma vez e meia maior quando alimentados (SOOD; PAJNI, 2006). A longevidade de *Trichogramma carverae* e *T. brassicae* foi maior (11 e 13 dias, respectivamente) com mel que sem alimento (oito e seis dias, respectivamente) (GURR; NICOL, 2000). No entanto, a longevidade de parasitoides não aumentou quando alimentados por um dia após a emergência e mostrou que o fornecimento de alimento deve ser constante (MCDOUGALL & MILLS, 1997; SOOD & PAJNI, 2006).

Tabela 2. Longevidade médias em dias (± EP) de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Spodoptera frugiperda* com oferecimento de diferentes fontes alimentares (Temp: 26ºC ± 2ºC, UR: 60 ± 10 % e fotofase de 12 h).

Tratamento	Longevidade [(1)]
Mel Puro	18,4±0,3a
Mel 10%	18,1±0,4a
Hemolinfa + Mel puro	18,9±0,4a
Hemolinfa	6,1±1,2b
Sem Alimentação	4,6±0,4b
Água Destilada	2,9±0,4c

[(1)]Médias seguidas da mesma letra (na coluna) não diferem entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$).

Quanto à razão sexual não houve variação para as condições testadas, uma vez que 100% dos indivíduos emergidos foram fêmeas, fato que pode ser explicado pela ocorrência de reprodução partenogenética telítoca. Bactérias do gênero *Wolbachia* e *Cardinium* são endossimbiontes, comumente encontradas nos tecidos reprodutores de invertebrados, sendo conhecidas como "manipuladores da reprodução", desencadeando diversas alterações reprodutivas entre as mais comuns à partenogênese telítoca (GHERNA et al., 1991; HURST et al., 1999a; HURST et al., 1999b; WEEKS et al., 2001; IRONSIDE et al., 2003; ZCHORI-FEIN & PERLMAN, 2004; WEEKS & STOUTHAMER, 2004; GOTOH et al., 2007). Testes para presença destas endobactérias, com os "primers" específicos para esses simbiontes foram realizados nas fêmeas de *T. diatraeae* utilizadas neste experimento para explicação da partenogênese telítoca, com resultado negativos. Novos estudos, serão realizados para melhor entendimento deste fenômeno.

Os principais açúcares que compõem o néctar (glicose, frutose e sacarose) parecem ser os carboidratos mais apropriados para a criação de parasitoides, por aumentar a longevidade, e a capacidade de parasitar um maior número de hospedeiros ao longo da vida (IDRIS & GRAFIUS, 1995; WÄCKERS, 2001; WILLIAMS & ROANE, 2007). A alimentação de fêmeas de *T. diatraeae* em campo é importante, para que sobreviva por mais tempo e parasitar um maior número de pupas.

O mel mostrou-se o alimento mais adequado para *T. diatraeae*, demonstrando altos níveis de parasitismo, emergência, progênie total e longevidade, além de ser um alimento fácil de ser adquirido e pouco dispendioso.

4. REFERÊNCIAS

ABBOTT WS (1925) A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, College Park 18: 265-266.

AMALIN DM (2002) Natural mortality factors acting on citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*, in lime orchards in South Florida. **BioControl** 47: 327-347.

BERTI J & MARCANO R (1991) Effect of time of host absence on parasitism by *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym.: Trichogrammatidae). **Boletin de Entomologia Venezolana** 6: 5-10.

BLEICHER E & PARRA JRP (1990) Espécies de *Trichogramma* parasitoides de *Alabama argillacea*. Determinacão das exigências termicas de três populacões. **Pesquisa. Agropecuária. Brasileira** 25: 215-219.

BOURNIER JP (1975) Sur la reproduction parthenogenetique de *trichospilus diatraeae*. **Bulletin de la Societé Entomologique de France** 80 : 116-118.

DELVARE G & LASALLE J (1993) A new genus of *Tetrastichinae* (Hymenoptera: Eulophidae) from the Neotropical region, with the description of a new species parasitica on key pests of oil palm**. Journal of Natural History** 27: 435-444.

FUCHSBERG JR, YONG TH, LOSEY JE, CARTER ME AND HOFFMANN MP (2007) Evaluation of corn leaf aphid (*Rhopalosiphum maidis*; Homoptera: Aphididae) honeydew as a food source for the egg parasitoid *Trichogramma ostriniae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Biological Control** 40: 230-236.

GHERNA RL, WERREN JH, WEISBURG W, COTE R, WOESE, CR, MANDELCO L & BRENNER DJ (1991) *Arsenophonus nasoniae* gen. nov.. sp. nov.. the causative agent of the Sonkiller trait in the parasitic wasp *Nasonia vitripennis*. **International Journal of Systematic Bacteriology** 41: 563-565.

GILBERT F & JERVIS M (1998) Functional, evolutionary and ecological aspects of feeding-related mouthpart specializations in parasitoid . **Biological Journal of the Linnean Society**, 63: 495 535.

GILLOTT C (2005) **Entomology. Dordrecht**: Springer. 831 p.

GOTOH T, NODA H & ITO S (2007) *Cardinium* symbionts cause cytoplasmic incompatibility in spider mites. **Heredity** 98: 13-20.

GURR GM & NICOL HI (2000) Effect of food on longevity of adults of *Trichogramma carverae* Oatman and Pinto and *Trichogramma nr brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Australian Journal of Entomology** 39: 185-187.

HAGEN KS & BISHOP GW (1979) Use of supplemental foods and behavioral chemicals to increase the effectiveness of natural enemies, p. 49-60. In: MEIRELLES AP, CARNEIRO PR, FERNANDES OA (2002) Efeito de diferentes fontes de carboidrato e da privação de alimento sobre aspectos biológicos de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera, Scelionidae). **Revista Brasileira de Entomologia** 53: 457–460.

HOUSE HL Insect nutrition. In: MEIRELLES AP, CARNEIRO PR, FERNANDES OA 2002. Efeito de diferentes fontes de carboidrato e da privação de alimento sobre aspectos biológicos de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera, Scelionidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, 53: 457–460.

HURST GDD, JIGGINS FJ, SCHULENBURG J, BERTRAND D & WEST SA (1999a) *Wolbachia* in two species of insect. **Proceedings of the Royal Entomological Society of London Series B** 266: 735-740.

HURST GDD, SCHULENBURG J, MAJERUS TMO, BERTRAND D & ZAKHAROV IA (1999b) Invasion of one insect species *Adalia bipunctata*. by two different male-killing bacteria. **Insect Molecular Biology** 8: 133-139.

IDRIS AB & GRAFIUS E (1995) Wildflowers as nectar sources for *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae), a parasitoid of diamondback moth (Lepidoptera: Yponomeutidae). **Environmental Entomology** 24: 1726-1735.

IRONSIDE JE, SMITH JE, HATCHER MJ, SHARPE RG, ROLLINSON D & DUNN AM (2003) Two species of feminizing microsporidian parasite coexist in populations of *Gammarus duebeni*. **Journal of Evolutionary Biology** 16: 467-473.

JERVIS MA & KIDD N (1996) Host-feeding strategies in hymenopteran parasitoids. **Biological Review** 61: 395–434.

JERVIS MA, FERNS PN & HEIMPEL GE (2003) Body size and the timing of egg production: a comparative analysis. **Functional Ecology** 17: 375-383.

JERVIS M.A, KIDD N, FITTON MG, HUDDLESTON T & DAWAH H A (1993) Flower-visiting by hymenopteran parasitoids. **Journal of Natural History** 27: 67-105.

LEE JC & HEIMPEL GE (2008) Floral resources impact longevity and oviposition rate of a parasitoid in the field. **Journal of Animal Ecology** 77: 565-572.

LEE JC, HEIMPEL GE & LEIBEE GL (2004) Comparing floral nectar and aphid honeydew diets on the longevity and nutrients levels of a parasitoid wasp. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 111: 189-199.

MCDOUGALL SJ AND MILLS NJ (1997) The influence of hosts, temperature and food sources on the longevity of *Trichogramma platneri*. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 83: 195-203.

MEIRELLES AP, CARNEIRO TR, FERNANDES OA (2009) Efeito de diferentes fontes de carboidrato e da privação de alimento sobre aspectos biológicos de *Telenomus remus Nixon* (Hymenoptera, Scelionidae) **Revista Brasileira de Entomologia** 53: 457–460.

NATION JL (2002) **Insect Physiology and Biochemistry**. CRC, Boca Raton, FL.

OLSON DM & ANDOW DA (1998) Larval Nutrition effects on longevity and fecundity of female *Trichogramma nubilale* Ertle & Davis (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Environmental Entomology** 27: 508-514.

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

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

SOOD S AND PAJNI HR (2006) Effect of honey feeding on longevity and fecundity of *Uscana mukerjii* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), an egg parasitoid of bruchids attacking stored products (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research** 42: 438-444.

TENHUMBERG B, SIEKMANN G & KELLER MA (2006) Optimal time allocation in parasitic wasps searching for hosts and food. **Oikos** 113: 121-131.

UTIDA S (1957) Population fluctuations, an experimental and theoretical approach. **Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology** 22: 139-151.

VAN LENTEREN JC, VAN VIANEN A, GAST HF AND KORTENHOFF A (1987) The parasite-host relationship between *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae) and *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Homoptera: Aleyrodidae). XVI. Food effects on oogenesis, oviposition, life-span and fecundity of *Encarsia formosa* and other hymenopterous parasites. **Journal of Applied Entomology** 103: 69-84.

VINSON, S.B. (1998) The general host selection behavior of parasitoid Hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. **Biological Control** 11: 79-96.

WÄCKERS FL (2001) A comparison of nectar- and honeydew sugars with respect to their utilization by the hymenopteran parasitoid *Cotesia glomerata*. **Journal of Insect Physiology** 47: 1077-1084.

WILLIAMS IIIL & ROANE TM (2007) Nutritional ecology of a parasitic wasp: Food source affects gustatory response, metabolic utilization, and survivorship. **Journal of Insect Physiology** 53: 1262-1275.

WEEKS AR & STOUTHAMER R (2004) Increased fecundity associated with infection by a cytophaga-like intracellular bacterium in the predatory mite. *Metaseiulus occidentalis*. **Proceedings of the Royal Entomological Society of London Series B** 4: 193-195.

WEEKS AR, MAREC F & BREEUWER JAJ (2001) A Mite Species That Consists Entirely of Haploid Females. **Science** 292: 2479-2482.

ZACHÉ B, WILCKEN CF, DACOSTA RR, SOLIMAN EP (2010) *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), a new parasitoid of *Melanolophia consimilaria* (Lepidoptera: Geometridae). **Phytoparasitica** 38: 355-357.

ZCHORI-FEIN E & PERLMAN SJ (2004) Distribution of the bacterial symbiont *Cardinium* in arthropods. **Molecular Ecology** 13: 2009-2016.

CAPÍTULO 3- Desempenho do parasitoide *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) sob diferentes tempos de exposição utilizando como hospedeiro *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)

(Baseado nas normas do periódico Neotropical Entomology)

Resumo: Estudos sobre a viabilidade do uso de *Spodoptera frugiperda* como hospedeiro alternativo para criação de *Trichospilus diatraeae* vêm sendo realizados visando contribuir para o melhor entendimento sobre a dinâmica populacional do hospedeiro e do parasitoide. O objetivo deste experimento foi determinar os melhores tempos de exposição de pupas de *S. frugiperda* ao parasitoide *T. diatraeae*. Para o experimento pupas de *S. frugiperda* obtidas da criação em dieta artificial, com 24 horas de idade, foram expostas ao parasitismo por fêmeas de *T. diatraeae* de 24 horas de idade na proporção de 28:1 (parasitoide: hospedeiro). O ensaio foi composto por cinco tratamentos: 12 h, 24 h, 48 h, 72 h e 96 h de exposição ao parasitismo, com 20 repetições para cada tratamento. Foram avaliados o desenvolvimento pós-embrionário, produção de parasitoides por hospedeiro, razão sexual e taxa de parasitismo nos diferentes tempos de exposição. A taxa de parasitismo, emergência e número médio de indivíduos produzidos mostraram incremento à medida que houve o aumento do tempo de exposição, enquanto o período pós-embrionário diminuiu com o aumento do tempo de exposição. Quanto à razão sexual não houve variação para as condições testadas, uma vez que 100% dos indivíduos emergidos foram fêmeas, devido à reprodução partenogenética telítoca. Os dados obtidos neste experimento reforçam a utilização de *S frugiperda* como hospedeiro para a criação massal, pois em todos os tratamentos houve emergência de adultos, sendo que os tempos de exposição de 72 e 96 horas apresentaram maior taxa de emergência, progênie total e maior número de parasitoides emergidos, mostrando-se os melhores tempos para fins de implementação de um sistema de criação massal.

Palavras chave: Parasitoide de pupa, Eulophidae, Lagarta do cartucho do milho, Criação massal

Performance of parasitoid *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) under different times of exposure used as host *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)

ABSTRACT: Ongoing studies on the viability of *Spodoptera frugiperda* as an alternative host for cultivation of *Trichospilus diatraeae* have sought to contribute to elucidating the populational dynamic of the host and parasitoid. This experiment aimed to ascertain the optimum times of exposure of *S. frugiperda* pupae to the parasitoid *T. diatraeae*. In the experiment *S. frugiperda* pupae raised on an artificial diet, aged 24 hours, were exposed to parasitism by 24-hour-old *T. diatraeae* females at the host-parasitoid proportion of 1:28; these insects were divided into 5 treatments: 12 hours, 24 hours, 48 hours, 72 hours and 96 hours of exposure to parasitism with 20 repetitions for each treatment. By evaluating post-embryonic development, per-host parasitoid productivity, sex ratio and parasitism rate at different exposure times, it was possible to ascertain variables that could be manipulated in order to establish mass rearing of a natural enemy and augment its efficiency. Rates of parasitism, emergence and number of individuals produced increased in direct proportion with exposure time, while the post-embryonic period diminished along with the augmentation of exposure time. The sex ratio did not vary under the conditions tested, since 100% of emerged individuals were females, a fact attributable to reproduction by thelytokous parthenogenesis. The data obtained in this experiment reinforce the utilization of *S frugiperda* as a host for mass rearing, since all treatments produced emergence of adults. The 72- and 96-hour exposure times presented the highest emergence rates, total progeny and greatest number of emerged parasitoids, and were thus demonstrated the optimum durations for implementing a system of mass rearing.

Keywords: Parasitoid pupae, Eulophidae, fall armyworm, mass rearing

1. Introdução

Spodoptera frugiperda (Smith & Abbott) (Lepidoptera: Noctuidae), conhecida como lagarta do cartucho do milho, é uma praga que ataca diversas culturas, especialmente milho (CARVALHO, 1970), ocasionando perdas na produção que variam de 15% a 34% (CRUZ et al., 1996) e culminando em grandes prejuízos aos agricultores.

Estudos sobre a viabilidade do uso de *S. frugiperda* como hospedeiro alternativo para criação do parasitoide de pupas *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) vêm sendo realizados visando contribuir para o melhor entendimento da dinâmica entre o hospedeiro e o parasitoide. Programas de controle biológico de pragas têm apresentado grande crescimento nas últimas décadas devido à pressão da sociedade por sistemas de produção com uso reduzido de agrotóxicos, favorecendo a conservação e o uso sustentável dos recursos biológicos. A utilização de inimigos naturais no controle de pragas tem se mostrado uma alternativa viável devido à eficiência e aos baixos custos relativos.

Parasitoides podem ser fator importante na regulação da dinâmica populacional de insetos-praga (UTIDA, 1957). De acordo com Vinson (1998), estudos envolvendo o comportamento dos parasitoides para produção massal incluem a interferência direta do tempo de exposição ao parasitismo.

Dando continuidade aos estudos, para conhecimento de características biológicas e técnicas criação massal de *T. diatraeae*, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o desenvolvimento pós-embrionário, produtividade de parasitoides por hospedeiro, razão sexual e taxa de parasitismo de *T. diatraeae* criados em pupas de *S. frugiperda* em diferentes tempos de exposição, servindo de pré-requisito para se estudarem variáveis que possam ser manipuladas, com o intuito de produzir o inimigo natural e incrementar sua eficiência.

2. Material e Métodos

Os parasitoides utilizados neste experimento foram obtidos da criação estoque que foi iniciada com adultos provenientes de pupas de *Iridopsis* sp. (Lepdoptera: Geometridae) coletadas em campo em Minas Gerais. Estes parasitoides foram mantidos em pupas de *S. frugiperda*. Fêmeas de *T. diatraeae* foram mantidas em tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro e

8,5 cm de comprimento) vedados com tecido tipo "voil" e alimentados com gotículas de mel puro. Para multiplicação da parasitoide, pupas de *S. frugiperda* com 24 a 48 horas de idade foram expostas ao parasitismo por 72 horas. Após esse período, as pupas parasitadas foram individualizadas em tubos de vidro, acondicionadas em bandejas plásticas e mantidas em sala climatizada a 26 ± 2ºC, UR 60 ± 10 % até a emergência de adultos, conforme a metodologia adotada para criação (ZACHÉ et al., 2010).

Para o experimento pupas de *S. frugiperda* obtidas da criação em dieta artificial, com 24 horas de idade, foram expostas ao parasitismo por fêmeas de *T. diatraeae* com 24 horas de idade, na proporção parasitoide: hospedeiro, de 28 : 1, que demonstrou em testes anteriores ser a mais eficiente para o parasitismo. O ensaio foi composto por cinco tratamentos: exposição ao parasitismo por 12 h, 24 h, 48 h, 72 h e 96 h, com 20 repetições, constituída de um tubo com uma pupa para cada tratamento. As pupas foram selecionadas com peso entre 180 mg e 240 mg para evitar variação na biomassa disponível do hospedeiro. Após o tempo de cada tratamento, as fêmeas de *T. diatraeae* foram retiradas dos tubos e os hospedeiros individualizados e mantidos em sala climatizada a 26ºC ± 2ºC, UR 60 ± 10 % até a emergência dos adultos do parasitoide.

A mortalidade natural do hospedeiro foi calculada segundo Abbott (1925) nas mesmas condições ambientais do experimento. As observações foram diárias e realizadas sempre em mesmo horário, até o 35° dia após o término da exposição.

Os parâmetros avaliados foram: duração do ciclo de vida (ovo-adulto), porcentagem de parasitismo, razão sexual (rs = n.º♀/ n.º ♂+♀), número de parasitoides emergidos e o número de imaturos que não completaram seu desenvolvimento. O sexo dos adultos de *T. diatraeae* foi determinado baseado nas características morfológicas da antena e do abdome (PARON, 1999).

O delineamento estatístico utilizado para avaliar os parâmetros dos experimentos foi inteiramente casualizado. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade para dados paramétricos. Os dados não paramétricos foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$).

3. Resultados e Discussão

Quanto à taxa de parasitismo, os tempos de exposição ao parasitismo acima de 48 h não diferiram estatisticamente, com taxas acima dos 90%, enquanto que a 12 e 24 h se mostraram inferiores, com taxas de parasitismo abaixo de 65% (Figura 1).

Os resultados relativos à taxa de emergência mostraram que houve diminuição para a exposição a 12 e 24 h, enquanto para tratamentos com 48, 72 e 96 horas verificou-se emergência acima de 90%, sendo que 72 h se mostrou o melhor tratamento (Figura 1).

Esse fato pode ser devido ao mecanismo de defesa de pupas contra parasitoides nos tratamentos com menores tempos de exposição. Um hospedeiro pode apresentar defesa celular e reações que envolvem o encapsulamento e melanização do ovo do endoparasitoide (Pennacchio & Stand, 2006). Em contrapartida, o superparasitismo pode aumentar as probabilidades de sobrevivência da progênie de um parasitoide, pois diversos ovos podem esgotar a resposta celular imune de um hospedeiro (SAGARRA et al. 2000).

Foi observado aumento da inviabilidade de pupas hospedeiras com o aumento do tempo de exposição de 96 h em comparação com 72 h (Figura 1). O mesmo foi observado por Cardoso & Milward-de-Azevedo (1995), que constataram aumento da mortalidade de pupas do hospedeiro *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae) em densidades elevadas do parasitoide *Nasonia vitripennis* expostas ao parasitismo por 48 h, em comparação com 24 h. Os autores consideraram como justificativa para esta observação o efeito deletério exploratório e alimentar das fêmeas com a finalidade de permitir a ingestão de fluído do corpo do hospedeiro, sendo esse comportamento conhecido como picada alimentícia (AMALIN ET AL., 2002). Segundo Wylie (1966), o tempo de exposição pode influenciar o estado nutricional das fêmeas parasitoides por possibilitar maior ingestão de proteínas a partir de fluidos do hospedeiro.

Foerster et al. (2001) também constataram que houve aumento no parasitismo com o aumento do tempo de exposição de larvas de *Mythimna* (*Pseudaletia*) *sequax* Franclemont (Lepidoptera: Noctuidae) ao parasitoide *Glyptapanteles muesebecki* (Blanchard) (Hymenoptera: Braconidae). É provável que, com o aumento do tempo disponível, os parasitoides sejam estimulados pela maturação de ovos a continuar procurando e tenham maiores chances de localizar e parasitar mais hospedeiros em campo. Os parasitoides sinovigênicos necessitam de tempo para a produção de novos ovos durante a vida adulta e,

portanto, são limitados pelo tempo para a expressão de todo o seu potencial de parasitismo (PAPAJ, 2000).

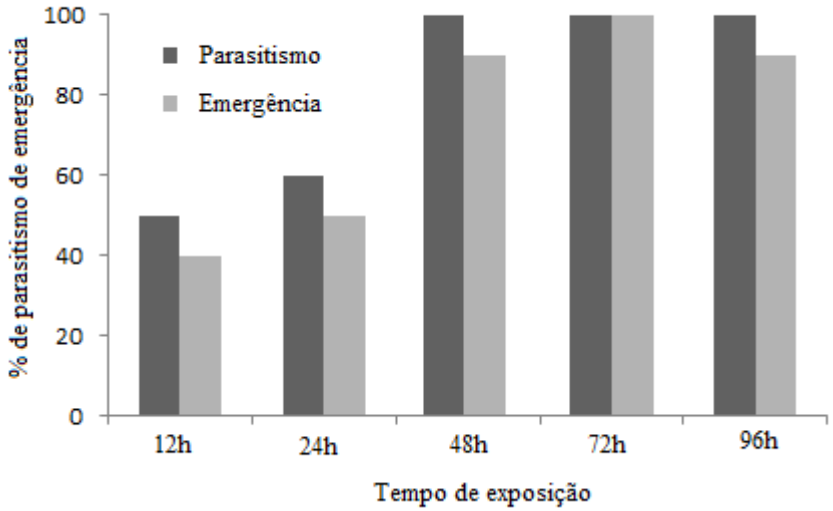


Figura 1. Porcentagem de parasitismo e emergência (±EP) de *Trichospilus diatraeae* criados em pupas de *Spodoptera frugiperda* expostas por diferentes períodos de exposição. (26ºC ± 2ºC, UR: 60% e fotofase de 12 h). Botucatu. 2012.

A duração média do período de desenvolvimento de ovo a emergência dos adultos de *T. diatraeae* submetidos a diferentes tempos de exposição ao hospedeiro (12, 24, 48, 72 e 96 horas) variou significativamente entre as repetições. Para os tempos de exposição de 12 e 24 horas, foi verificado ciclo mais longo, seguido dos tratamentos com exposição de 48 e 72 horas. O tratamento de 96 horas apresentou significativamente a menor duração (21,8 dias) (Tabela 1). Isto pode ser devido ao superparasitismo, que leva ao esgotamento dos recursos alimentares e à aceleração no desenvolvimento de *T. diatraeae* sobre pupas de *S. frugiperda.*

Resultado similar foi encontrado por Barbosa et al. (2010), que mediram o desenvolvimento de *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Braconidae) criadas em pupas de *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae) utilizando diferentes tempos de exposição do hospedeiro ao parasitoide, e observou leve aceleração do desenvolvimento do ovo a adulto até a exposição de 72 horas, voltando a declinar em 96 horas. Diferindo do trabalho de Cardoso & Milward-de-Azevedo (1995) ainda estudando a exposição de *Chrysomya megacephala* à *N.*

vitripennis por períodos de 24 e 48 horas, não verificaram diferença significativa no tempo de desenvolvimento entre os tempos de exposição.

Tabela 1. Duração do ciclo ovo-adulto de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) criados em pupas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) expostas a diferentes períodos de exposição. (Temp: 26ºC ± 2ºC, UR: 60 ± 10 % e fotofase de 12 h).

Tempo de exposição	Duração ciclo ovo-adulto [(1)]
12 h	26,1±0,9 a
24 h	26,2±0,4 a
48 h	24,5±0,4 b
72 h	24,1±0,3 b
96 h	21,8±0,5 c

[(1)]Tratamentos seguidos da mesma letra (na coluna) não diferem entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$).

Quanto à produção de parasitoides pode-se verificar aumento no número de parasitoides emergidos bem como na progênie total, quando houve aumento do tempo de exposição ao parasitismo. Os melhores resultados foram obtidos com exposição de 72 e 96 horas, com número de parasitoides e progênie total acima de 278 indivíduos (Tabela 2), confirmando relação diretamente proporcional entre o tempo de exposição e o tamanho da progênie.

Cardoso & Milward-de-Azevedo (1995) observaram aumento no número de parasitoides *N. vitripennis* produzidos por pupa hospedeira de *C. macellaria* com o aumento do tempo de exposição de 24 para 48 horas. No trabalho de Barbosa et al. (2010), com o mesmo parasitoide e hospedeiro, esse aumento foi observado em 12, 24, 48 até 72 horas, apresentando queda em 96 horas. Estes resultados podem estar relacionados ao superparasitismo e à capacidade exploratória e alimentar da fêmea parasitoide (WYLIE 1963).

O desenvolvimento do parasitoide está intimamente associado ao tamanho do hospedeiro bem como à densidade de parasitoides e tempo de exposição do hospedeiro, já que esses fatores influenciam no tamanho da prole. O aumento do tempo de exposição dificulta a visualização dos efeitos do superparasitismo, devido à ação exploratória e casual das fêmeas adultas sobre os hospedeiros (CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO 1995).

Tabela 2. Número de parasitoides emergidos, não emergidos e progênie total (±EP) de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) criados em pupas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) expostas a diferentes períodos de exposição. (Temp: 26ºC ± 2ºC, UR: 60 ± 10% e fotofase de 12 h).

Tempo de exposição	Número de parasitoides emergidos/pupa [(1)]	Número de parasitoides não emergidos/pupa [(1)]	Progênie total [(1)]
12 h	58,7 ± 5,1 c	1,8 ± 0,3 a	32,8 ± 6,0 c
24 h	61,5 ± 8,1 c	3,4 ± 2,6 a	79,7 ± 5,2 c
48 h	158,5 ± 12,2 b	2,1 ± 0,4 a	138,4 ± 6,9 b
72 h	278,4 ± 4,4 a	3,6 ± 1,8 a	280,7 ± 6,3 a
96 h	291,6 ± 21,1 a	4,1 ± 2,1 a	292,8 ± 7,3 a

[(1)] Tratamentos seguidos da mesma letra (na coluna) não diferem entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$).

Quanto à razão sexual não houve variação para as condições testadas, uma vez que 100% dos indivíduos emergidos foram fêmeas, fato que pode ser explicado pela ocorrência de reprodução partenogenética telítoca. Bactérias do gênero *Wolbachia* e *Cardinium* são endossimbiontes, comumente encontradas nos tecidos reprodutores de invertebrados, sendo conhecidas como "manipuladores da reprodução", desencadeando diversas alterações reprodutivas entre as mais comuns à partenogênese telítoca (GHERNA et al., 1991; HURST et al., 1999a; HURST et al., 1999b; WEEKS et al., 2001; IRONSIDE et al., 2003; ZCHORI-FEIN & PERLMAN, 2004; WEEKS & STOUTHAMER, 2004; GOTOH et al., 2007). Testes para presença destas endobactérias, com os "primers" específicos para esses simbiontes foram realizados nas fêmeas de *T. diatraeae* utilizadas neste experimento para explicação da

partenogênese telítoca, com resultado negativos. Novos estudos, serão realizados para melhor entendimento deste fenômeno.

Os dados obtidos neste experimento reforçam a utilização de *S. frugiperda* como espécie hospedeira na criação massal e a utilização de *T. diatraeae* em programas de controle biológico, pois em todos os tratamentos houve emergência de adultos. Os tempos de exposição de 72 e 96 horas apresentaram maior taxa de emergência e maior progênie total e maior número de parasitoides emergidos, mostrando-se os melhores tempos para fins de sistema de criação.

4. Referências

AMALIN DM (2002) Natural mortality factors acting on citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*, in lime orchards in South Florida. **BioControl** 47: 327-347.

BARBOSA LS, COURI MS, COELHO VMA (2010) Desempenho do parasitoide *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera, Pteromalidae) utilizando como hospedeiro *Cochliomyia macellaria* (Fabricius) (Diptera, Calliphoridae), sob diferentes tempos de exposição. **Revista Brasileira de Entomologia** 54: 125–129.

BOURNIER JP (1975) Sur la reproduction parthenogenetique de *trichospilus diatraeae*. **Bulletin de la Societé Entomologique de France** 80: 116-118.

CARDOSO D & MILWARD-DE-AZEVEDO EMV (1995) Influência da densidade de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) sobre a capacidade reprodutiva de fêmeas nulíparas de *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae). **Revista Brasileira de Entomologia** 39: 779−786.

CARVALHO RPL (1970) **Danos, flutuação da população, controle e comportamento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) e susceptibilidade de diferentes genótipos de milho, em condições de campo.** Piracicaba: ESALQ-USP. 170p. Tese de Doutorado.

CRUZ I, OLIVEIRA LJ, OLIVEIRA AC, VASCONCELOS CA (1996) Efeito do nível de saturação de alumínio em solo ácido sobre os danos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) em milho. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal 25: 293-297.

DELVARE G & LASALLE J (1993) A new genus of *Tetrastichinae* (Hymenoptera: Eulophidae) from the Neotropical region, with the description of a new species parasitica on key pests of oil palm. **Journal Natural History** 27: 435-444.

FOERSTER L A, DOETZER A K, AVANCI MRF (2001) Parasitoides larvais de *Mythimna* (*Pseudaletia*) *sequax* Franclemont e capacidade de parasitismo de *Glyptapanteles muesebecki* (Blanchard) em relação ao tempo de exposição, temperatura e densidade de hospedeiros. **Acta Biológica Paranaense** 30: 139-149.

GHERNA RL, WERREN JH, WEISBURG W, COTE R, WOESE CR, MANDELCO L & BRENNER DJ (1991) *Arsenophonus nasoniae* gen. nov.. sp. nov.. the causative agent of the Sonkiller trait in the parasitic wasp *Nasonia vitripennis*. **International Journal of Systematic Bacteriology** 41: 563-565.

GOTOH T, NODA H & ITO S (2007) *Cardinium* symbionts cause cytoplasmic incompatibility in spider mites. **Heredity** 98: 13-20.

HURST GDD, JIGGINS FJ, SCHULENBURG J, BERTRAND D & WEST SA (1999) Male-killing Wolbachia in two species of insect. **Proceedings of the Royal Entomological Society of London Series B** 266: 735-740.

HURST GDD, SCHULENBURG J, MAJERUS TMO, BERTRAND D & ZAKHAROV IA (1999b) Invasion of one insect species Adalia bipunctata. by two different male-killing bacteria. **Insect Molecular Biology** 8: 133-139.

IRONSIDE JE, SMITH JE, HATCHER MJ, SHARPE RG, ROLLINSON D & DUNN AM (2003) Two species of feminizing microsporidian parasite coexist in populations of Gammarus duebeni. **Journal of Evolutionary Biology** 16: 467-473.

PAPAJ DR (2000) Ovarian dynamics and host use. **Annual Review of Entomology** 45: 423-448.

PARON MR (1999) **Bioecologia de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Maragabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), endoparasitóide de Lepidoptera.** Piracicaba, SP. USP. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior "Luis de Queiroz, Universidade de São Paulo. Piracicaba.

PENNACCHIO F, STRAND MR (2006) Evolution of developmental strategies in parasitic hymenoptera. **Annual Review of Entomology** 51: 233-258.

PEREIRA FF, ZANUNCIO JC, TAVARES MT, PASTORI PL, JACQUES GC (2008) Record of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) as parasitoid of the eucalypt defoliator *Thyrinteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) in Brazil. **Phytoparasitica** 36: 304-306.

SAGARRA LA, PETERKIN DD, VICENT C, STEWART RK (2000) Immune response of the hibiscus mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* Green (Homoptera: Pseudococcidae), to oviposition of the parasitoid *Anagyrus kamali* Moursi (Hymenoptera Encyrtidae). **Journal of Insect Physiology** 46: 647-653.

UTIDA S (1957) Population fluctuations, an experimental and theoretical approach. **Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology** 22: 139-151.

VINSON SB (1998) The general host selection behavior of parasitoid Hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. **Biological Control** 11: 79-96.

WEEKS AR & STOUTHAMER R (2004) Increased fecundity associated with infection by a cytophaga-like intracellular bacterium in the predatory mite. Metaseiulus occidentalis. **Proceedings of the Royal Entomological Society of London Series B** 4: 193-195.

WEEKS AR, MAREC F & BREEUWER JAJ (2001) A Mite Species That Consists Entirely of Haploid Females. **Science** 292: 2479-2482.

WYLIE HG (1963) Some effects of host age on parasitism by *Nasonia vitripennis* (Walk.) (Hymenoptera: Pteromalidae). **The Canadian Entomologist** 95: 881−886.

WYLIE H G (1966) Survival and reproduction of *Nasonia vitripennis* (Walker) on different host population densities. **The Canadian Entomologist** 98: 273−286.

ZACHÉ B, WILCKEN CF, DACOSTA RR, SOLIMAN EP (2010) *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), a new parasitoid of *Melanolophia consimilaria* (Lepidoptera: Geometridae). Phytoparasitica 38: 355-357.

ZCHORI-FEIN E & PERLMAN SJ (2004) Distribution of the bacterial symbiont Cardinium in arthropods. **Molecular Ecology** 13: 2009-2016.

CAPÍTULO 4- Capacidade reprodutiva de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) sobre pupas de *Spodoptera frugiperda* armazenadas por diferentes períodos a baixas temperaturas

(Baseado nas normas do periódico Neotropical Entomology)

RESUMO: Para obtenção de sucesso de uma criação massal de insetos é de relevância imprescindível que esta tenha continuidade durante todo ano, pois se houver interrupção não se conseguirá, em curto espaço de tempo, retormar aos níveis da produção inicial. Por isso, torna se necessário que a criação seja sustentável durante todo ano. O objetivo deste trabalho foi avaliar a reprodução de *T. diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) sobre pupas de *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) após armazenamento a cinco, oito, 10 e 18ºC e pelos períodos de um, cinco, oito e 10 dias. Após o período de armazenamento, cada pupa foi exposta ao parasitismo por 28 fêmeas recém-emergidas de *T. diatraeae* individualizadas em tubos de vidro de fundo chato, e mantidas em sala climatizada a 25±2ºC. As observações foram diárias durante todo o ciclo de desenvolvimento do parasitoide, e os parâmetros avaliados foram: porcentagem de parasitismo e emergência, razão sexual (rs=n.º fêmeas\n.º total), números de parasitoides emergidos, número de imaturos que não completaram seu desenvolvimento e o ciclo ovo-adulto de *T. diatraeae* foram avaliados. No experimento, o parasitismo foi superior a 95%. A emergência, o número de indivíduos emergidos, e não emergidos reduziram com o decorrer do armazenamento em todas as temperaturas, enquanto houve aumento na duração do ciclo ovo-adulto.

Palavras chave: Inimigo natural, baixas temperaturas, controle biológico, armazenamento

Reproductive capacity *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Spodoptera frugiperda* pupal stored at low temperatures.

ABSTRACT: To achieve successful mass rearing of insects, it is crucial that the process have continuity throughout the years, given that an interruption would prevent, in a short duration, a return to initial production levels. This work aimed to evaluate the reproduction effect of *T.diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) on pupae of *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) after storage at five, eight, 10 and 18ºC for periods of one, five, eight and 10 days. After the storage period, each pupa was exposed to parasitism by 28 recently emerged females of *T. diatraeae* individualized in flat-bottomed glass tubes, and maintained in a climate-controlled room at 25±2ºC. Throughout the parasitoid development cycle, daily observations were made to assess the percentage of parasitism and emergence, sex ratio (sr=number of females divided by the total number), numbers of emerged and immature incompletely developed parasitoids and the egg-adult cycle of *T. diatraeae*. In the experiment, the parasitism exceeded 95%. Emergence, number of emerged and non-emerged individuals were reduced as storage time elapsed at all temperatures, while time also produced elongation of the egg-adult cycle.

Keywords: Natural enemy, low temperatures, biological control, storage

1. Introdução

Os inimigos naturais desempenham um importante papel na regulação de populações de seus hospedeiros, devido suas larvas se alimentarem de ovos, larvas, pupas ou adultos de outros insetos (ZANUNCIO et al., 2008).

Trichospilus diatraeae Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) originária da Ásia, é um parasitoide pupal preferencialmente da ordem Lepidoptera e tem sido estudado como agente potencial no controle biológico de pragas de importância da cana-de-açúcar, milho e algodão em países da África, Ásia e Américas (BOUCEK, 1976). No Brasil a introdução de *T. diatraeae* teria sido acidental, com sua primeira ocorrência relatada em 1996 em pupas de Arctiidae (Lepidoptera) em Piracicaba, no estado de São Paulo (PARON, BERTI FILHO, 2000). Em 2001 o parasitoide foi reportado em pupas de *Cerconota anonella* (Sepp) (Lepidoptera: Oecophoridae) em ingá-vera (*Annona muricata* L. [Annonaceae]) em Planaltina, Distrito Federal (OLIVEIRA et al., 2001).

T. diatraeae foi coletado em pupas de *T. arnobia* em eucalipto no estado de Minas Gerais (PEREIRA et al., 2008). Subsequentemente foi descrito parasitando as lagartas desfolhadoras do eucalipto: *Melanolophia consimilaria* (Walker) (Lepidoptera: Geometridae), *Euselasia eucerus* (Lepidoptera: Riodinidae), *Sarsina violascens* (Lepidoptera: Lymantriidae) e *Eupseudosoma aberrans* (Lepidoptera: Arctiidae), além da principal praga do mogno e cedro *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae), e *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae), praga que apresenta grande polifagia (ZACHÉ et al., 2010a; ZACHÉ et al., 2010b; ZACHÉ et al., 2011a; ZACHÉ et al., 2011b; ZACHÉ et al., 2012a; ZACHÉ et al., 2012b).

A possibilidade de conservação de hospedeiros em baixas temperaturas, sem perda da capacidade reprodutiva dos parasitoides e é importante para ajustar a produção dos mesmos visando liberações inundativas de acordo com a ocorrência de determinada praga ou para responder as flutuações na demanda por parasitoides e fornecer insetos para pesquisas (CARVALHO et al., 2008). Desta forma, a preservação do hospedeiro em estado adequado é importante para a criação massal de inimigos naturais (HACKERMANN et al., 2008).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade reprodutiva de *T. diatraeae* sobre pupas do hospedeiro alternativo *S. frugiperda* armazenada a baixas temperaturas

2. Material e Métodos

T. diatraeae foram obtidos de pupas de *Iridopsis* sp. (Lepidoptera: Geometridae) do campo e multiplicados em pupas de *S. frugiperda* nolaboratório. Fêmeas desse parasitoide foram mantidas em tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro e 8,5 cm de comprimento) vedados com tecido tipo "voil" e alimentados com gotículas de mel. Pupas de *S. frugiperda* com 24 a 48 horas de idade foram expostas ao parasitismo para multiplicação desse parasitoide por 72 horas. Após esse período, as pupas parasitadas foram individualizadas em tubos de vidro, acondicionadas em bandejas plásticas em sala climatizada até a emergência dos adultos, conforme metodologia descrita por Zaché et al., (2010a).

Para o experimento, pupas de *S. frugiperda*, com até 24 horas de idade, foram pesadas e selecionadas as com peso entre 0,280g e 0,340g para evitar variação na biomassa disponível do hospedeiro e armazenadas a cinco, oito, 10 e 18ºC (testemunha) por um, cinco, oito e 10 dias. Após o período de armazenamento, cada pupa foi exposta ao parasitismo por 28 fêmeas recém-emergidas de *T. diatraeae* em tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro e 8,5 cm de comprimento) por um período de 24 horas, nas seguintes condições ambientais: temperatura de 25 ± 2ºC, UR de 70 ± 10% e fotofase de 12 h. Os tubos continham uma gota de mel para alimentação dos parasitoides e foram fechados com tecido tipo "voil". Ao final do período de exposição ao parasitismo, as fêmeas de *T. diatraeae* foram retiradas dos tubos e as pupas mantidas em câmaras BOD nas mesmas condições ambientais citadas acima.

A avaliação do experimento teve acompanhamento diário para determinar a porcentagem de parasitismo, emergência, razão sexual (rs=n.^{o}fêmeas/n.^{o}total), número de parasitoides emergidos, número de imaturos que não completaram seu desenvolvimento e a longevidade de *T. diatraeae* foram avaliados.

O experimento foi conduzido em esquema fatorial 4 x 4 com os fatores representados pelas quatro temperaturas (5, 8, 10 e 18ºC) e os quatros períodos de armazenamento (1, 5, 8 e 10 dias), com 10 repetições. O delineamento estatístico utilizado para avaliar os parâmetros dos experimentos foi inteiramente casualizado. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade para os dados paramétricos. Os dados não-paramétricos foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$).

3. Resultados e Discussão

As taxas de parasitismo de *T. diatraeae* se mostraram constantes à medida que se aumentou o tempo de armazenamento ou se diminuiu a temperatura, mostrando que os maiores períodos de armazenamento e as menores temperaturas não influenciaram significativamente as taxas de parasitismo que se mostraram acima de 95% (Tabela 1). Resultado semelhante foi obtido por Jacob & Cox (1977) que mantiveram ovos de *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) armazenados por um período de 15 dias a 10^{o}C, e obtiveram uma viabilidade acima de 90 %.

Tabela 1. Parasitismo, Emergência, número de parasitoides emergidos (NPE), não-emergidos (NE), progênie total (PT) e duração do ciclo ovo adulto (±EP) de *Trichospilus diatraeae* em pupas de *Spodoptera frugiperda* armazenadas a diferentes tempos de exposição a diferentes temperaturas. (Temp: 26ºC ± 2ºC, UR: 60 ± 10 % fotofase de 12 h).

Dias de armazenamento	5°C	8°C	10°C	18°C
		Parasitismo(%) [ns]		
1D	97,5±0,3	95,4±1,4	100 ± 0,0	100,0 ± 0,0
5D	97,6±0,4	98±0,5	100 ± 0,0	100,0 ± 0,0
8D	96,4±0,5	96±0,6	100 ± 0,0	100,0 ± 0,0
10D	96,3±0,9	95,6±0,4	100 ± 0,0	100,0 ± 0,0
		Emergência (%) [1] [ns]		
	5°C	8°C	10°C	18°C
1D	92±0,5a	90,9±0,3a	99,0 ± 0,6a	98,0 ± 0,5a
5D	83,6±1,1b	83,0±0,5b	98,1 ± 0,5a	93,0 ± 0,4b
8D	75,1±1,8c	89,1±1,9a	76,4 ± 0,3b	91,0 ± 0,5c
10D	54,4±2,2d	64,8±1,1c	72,2 ± 1,2c	87,7 ± 0,5d
		Duração ciclo ovo adulto [1] [ns]		
	5°C	8°C	10°C	18°C
1D	18,1±0,07a	17,3±0,1a	18,1 ± 0,2a	17,0 ± 0,0a
5D	18,7±0,05a	18,0±0,08b	18,3 ± 0,2a	17,1 ± 0,1a
8D	18,7±0,06a	17,6±0,08a	18,0 ± 0,1a	17,0 ± 0,0a
10D	19,0±0,27b	18,8±0,1c	18,3 ± 0,2a	17,4 ± 0,1b
		(NPE) [1][ns]		
	5°C	8°C	10°C	18°C
1D	281,1±8,3a	229,7±4,3a	282,4 ± 2,3a	279,0 ± 2,5a
5D	203,7±5,2b	188,1±0,5b	177,6 ± 3,1b	257,0 ± 3,6a
8D	201,4±6,4b	177,8±0,7c	168,5 ± 1,4c	181,6 ± 14,3b
10D	96,3±1,2c	123,8±1,7d	97,8 ± 2,2d	164,6 ± 6,8b
		(NE) [1] [ns]		
	5°C	8°C	10°C	18°C
1D	0,2±0,0a	0,0±0,0a	0,0±0,0a	0,0 ± 0,0a
5D	2,2±0,08b	0,3±0,17b	0,0±0,0a	0,2 ± 0,1a
8D	2,3±0,1b	0,0±0,0a	0,3±0,1a	0,5 ± 0,1b
10D	1,1±0,1c	0,4±0,25b	0,9±0,2b	0,8 ± 0,2c

[1] Médias em cada coluna seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5%.

[ns] Não significativo pelo teste de Tukey a 5%.

O armazenamento demonstrou efeito negativo sobre a emergência de adultos de *T. diatraeae*. Com o aumento no tempo de armazenamento houve diminuição crescente nas taxas de emergência (Tabela 1), provavelmente devido à perda de qualidade do alimento oferecido pelo hospedeiro.

O maior tempo de armazenamento a frio pode: (1) alterar a cor e/ou promover o escurecimento do hospedeiro devido à melanização, causando declínio nas taxas de parasitismo e emergência (CHEN & LEOPOLD, 2007); (2) injuriar as células das pupas, o que compromete a sequência de reações metabólicas e consequentemente, sua qualidade nutricional (RUNDLE et al., 2004); (3) promover dessecação do hospedeiro contribuindo para a redução na reprodução do parasitoide (CORREA-FERREIRA & MOSCARDI, 1993); além de (4) permitir a deterioração devido à patógenos (KANGA et al., 2004), ou ainda, pela alteração da dureza ou espessura das estruturas do hospedeiro, bem como, mudanças no teor de água do hospedeiro armazenado (KIVAN & KILIC, 2005).

Esta relação entre o armazenamento do hospedeiro e características biológicas do parasitoide se mostra bem variável de acordo com o parasitoide, hospedeiro e tempo de armazenamento. *Muscidifurax uniraptor* (Hymenoptera: Pteromalidae) apresentou menor capacidade reprodutiva com pupas de *Musca domestica* (Diptera: Muscidae), armazenadas por um ou dois dias em relação à testemunha. No entanto, este parasitoide teve reprodução semelhante ou superior, com pupas armazenadas por longos períodos em relação ao controle (THOMAZINI; BERTI-FILHO, 1998; LEGNER, 1979).

A duração do ciclo ovo-adulto mostrou um aumento estatisticamente significativo para períodos de armazenamento (Tabela 1), esse aumento aconteceu em todas as temperaturas inclusive no tratamento testemunha. Esse aumento de duração no ciclo pode estar relacionado à manutenção da qualidade nutricional das pupas, uma vez que essas mantiveram condições fisiológicas e nutricionais adequadas por determinado período de armazenamento em função da espécie.

Resultado semelhante foi visto quando fêmeas de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) foram expostas a pupas de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) armazenadas por 20 dias a baixas temperaturas, como resultado foi percebido que o ciclo foi alongado, mostrando que pupas após o armazenamento seriam menos adequadas para o desenvolvimento completo destes parasitoides. Isso ocorre porque a refrigeração por longos

períodos pode danificar as células da pupa que, consequentemente, reduzem sua qualidade nutricional para utilização pelos parasitoides (MILWARD-DE-AZEVEDO et al., 2004).

Em todos os tratamentos, independentemente da temperatura, com o aumento no tempo de armazenamento houve diminuição no número de parasitoides emergidos (Tabela 1), o menor número de parasitoides emergidos demonstra impacto negativo com aumento do período de armazenamento como relatado para *P. elaeisis* em pupas de *B. mori* armazenadas a 10ºC (PEREIRA et al., 2009) e para *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae), quando o hospedeiro *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae), foi mantido a 2ºC por seis e nove dias (CARVALHO et al., 2008). A atividade metabólica da pupa depende do material nutritivo acumulado em seu corpo durante a fase larval (BERNARDO et al., 2008) e períodos prolongados de armazenamento a frio podem reduzir os nutrientes para o desenvolvimento do parasitoide (FOERSTER & DOETZER, 2006).

O número de parasitoides não-emergidos apresentou diferença estatística com a variação do tempo de armazenamento, enquanto não houve diferença entre as temperaturas (Tabela 1). Pupas de insetos apresentam resposta imunológica contra imaturos de parasitoides, porém, este mecanismo de defesa, que pode ser encapsulamento e/ou produção de toxinas, não pode ser ativado por muito tempo, devido ao alto custo metabólico (SCHMIDT et al., 2001;. SCHMID-HEMPEL, 2005).

Quanto à progênie total podemos ver claramente o efeito do armazenamento sobre a produção total, sendo que em todos os tratamentos o menor período de armazenamento apresentou os melhores resultados, enquanto 5 e 8 dias tiveram resultados intermediários os piores resultados foram obtidos quando as pupas foram armazenadas por 10 dias (Figura 1).

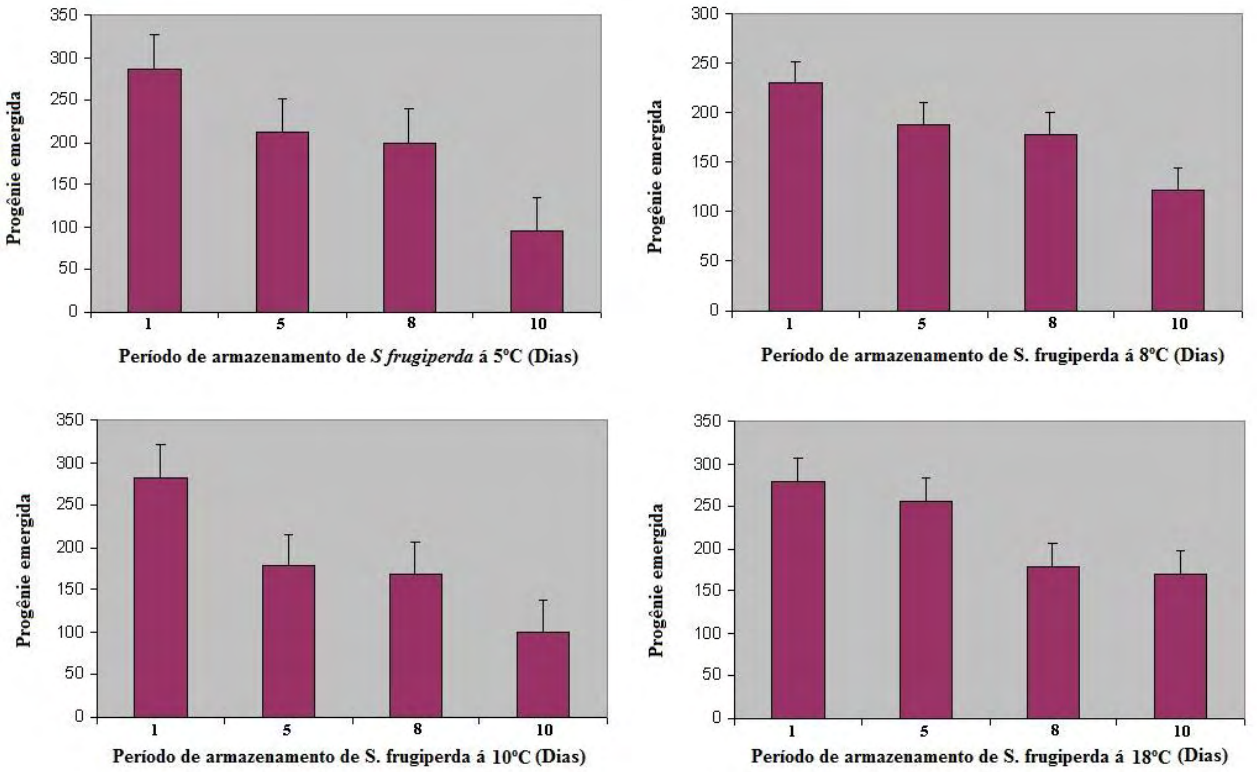


Figura 1. Progênie total de *T. diatraeae* sobre pupas de *S. frugiperda* armazenadas a 5ºC, 8ºC, 10ºC e 18ºC pelos períodos de 1, 5, 8 e 10 dias.

Quanto à razão sexual não houve variação para as condições testadas, uma vez que 100% dos indivíduos emergidos foram fêmeas, fato que pode ser explicado pela ocorrência de reprodução partenogenética telítoca. Bactérias do gênero *Wolbachia* e *Cardinium* são endossimbionte comumente encontrada nos tecidos reprodutores de invertebrados, sendo conhecidas como "manipuladores da reprodução" desencadeando diversas alterações reprodutivas entre as mais comuns a partenogênese telítoca (GOTOH et al., 2007). Testes para presença destas endobactérias, com os primers específicos para esses simbiontes foram feitos para explicação da partenogênese telítoca tiveram resultado negativos. Novos estudos devem ser realizados para melhor entendimento deste fenômeno.

Pupas de *S. frugiperda* armazenadas a baixas temperaturas de cinco, oito, 10 e 18ºC pelos períodos de um, cinco, oito e 10 dias demonstraram perda de qualidade com o aumento do período de armazenamento, porém não demonstraram nenhuma interferência quanto a

temperatura. A conservação de hospedeiros em baixas temperaturas constitui uma estratégia para disponibilizar um parasitoides para programas de controle biológico com librações inundativas (PEREIRA et al., 2009) ou de liberação inoculativa (AYVAZ et al., 2008), porém determinar o binômio (temperatura x tempo de armazenamento) é fundamental para estabelecer protocolos para armazenamento e evitar que o frio afete a viabilidade do hospedeiro (PANDEY & JOHNSON, 2005; CHEN & LEOPOLD, 2007).

4. Referências

AYVAZ A, KARASU E, KARABÖRKLÜ S, TUNÇBILEK AS (2008) Effects of cold storage, rearing temperature, parasitoid age and irradiation on the performance of *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Journal of Stored Products Research**44: 232-240.

BERNARDO U, VIGGIANI G, SASSO R (2005) Biological parameters of *Thripobius semiluteus* Bouček Hym., Eulophidae), a larval endoparasitoid of *Heliothrips haemorrhoidalis* (Bouché) (Thysan., Thripidae). **Journal Applied Entomology** 129: 250-257.

BOUCEK Z (1976) The African and Asiatic species of Trichospilus and Cotterelia (Hymenoptera, Eulophidae). **Bulletin of Entomological Research** 65: 669-681.

CARVALHO JS, VACARI AM, BORTOLI AS, VIEL SR (2008) Efeito do armazenamento de pupas de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) em baixa temperatura. **Boletin Sanidad Vegetal Plagas** 34: 21-26.

CHEN W-L, LEOPOLD RA (2007) Progeny quality of *Gonatocerus ashmeadi* (Hymenoptera: Mymaridae) reared on stored eggs of *Homalodisca coagulata* (Hemiptera: Cicadellidae). **Journal of Economic Entomology** 100: 685-694.

CORREA-FERREIRA BS, MOSCARDI F (1993) Técnicas de armazenamento de ovos do percevejo-verde visando à multiplicação do parasitoide *Trissolcus basalis* (Wollaston). **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 28: 1247-1253.

FOERSTER LA, DOETZER AK, CASTRO LCF (2004) Emergence, longevity and fecundity of *Trissolcus basalis* and *Telenomus podisi* after cold storage in the pupal stage. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 39: 841-845.

GOTOH T, NODA H & ITO S (2007) Cardinium symbionts cause cytoplasmic incompatibility in spider mites. **Heredity** 98: 13-20.

HÄCKERMANN J, ROTT AS, TSCHUDI-REIN K, DORN S (2008) Cold stored ectoparasitoid of Cydia fruit moths released under different temperature regimes. **BioControl** 53: 857-867.

JACOB TA, COX PD (1977) The influence of temperature and humidity on the life-cycle on *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Products Research** 13: 107-118.

KANGA LHB, JONES WA, HUMBER RA, BOYD JR DW. (2004) Fungus pathogens of the glassy-winged sharpshooter *Homalodisca coagulata* (Homoptera: Cicadellidae). **The Florida Entomologist** 87: 225-228.

KELLER, M.A. (1986) Overwintering by *Trichogramma exiguum* in North Carolina. **Environmental Entomology** 15: 659-661.

KIVAN M, KILIC N (2005) Effects of storage at low-temperature of various heteropteran host eggs on the egg parasitoid, *Trissolcus semistriatus*. **BioControl** 50: 589-600.

LEGNER EF (1979) Reproduction of *Spalangia endius*, *Muscidifurax raptor* and *M. zaraptor* on fresh vs. refrigerated fly hosts. **Annals of the Entomological Society of America** 72: 155-157.

MILWARD-DE-AZEVEDO EMV, SERAFIN I, PIRANDA EM, GULIAS-GOMES CC (2004) Desempenho reprodutivo de Nasonia *vitripennis* Walker (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas crioconservadas de *Chrysomia megacephala* Fabricius (Diptera: Calliphoridae): Avaliação preliminar. **Ciência Rural** 34: 207-211.

OLIVEIRA HN, ZANUNCIO JC, PEDRUZZI E P & ESPINDULA MC (2005) Rearing of *Thyrinteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) on guava and eucalyptus in laboratory. **Brazilian Archives of Biology and Technology** 48: 801–806.

PANDEY RR, JOHNSON MW. (2005) Effects of cold storage on *Anagyrus ananatis* Gahan (Hymenoptera: Encyrtidae). **Biological Control** 35: 9-16.

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

PEREIRA FF, ZANUNCIO JC, TAVARES MT, PASTORI P L & JACQUES GC (2008) Record of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) as parasitoid of the eucalypt defoliator *Thyrinteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) in Brazil. **Phytoparasitica** 36: 304–306.

RUNDLE BJ, THOMSON LJ, HOFFMANN AA (2004) Effects of cold storage on field and laboratory performance of *Trichogramma carverae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and the response of three Trichogramma spp. (*T. carverae*, *T. nr. brassicae*, and *T. funiculatum*) to cold. **Journal of Economic Entomology** 97: 213-221.

SCHMID-HEMPEL P (2005) Evolutionary ecology of insect immune defenses. **Annual Review of Entomology** 50: 529-551.

SCHMIDT O, THEOPOLD V, STRAND MR (2001) Innate immunity and its evasion and suppression by Hymenoptera endoparasitoid. **BioEssays** 234: 344-351.

THOMAZINI MJ, BERTI FILHO E (2001) Ciclo biológico, exigências térmicas e parasitismo de *Muscidifurax uniraptor* em pupas de mosca doméstica. **Scientia Agrícola** 58: 469-473.

ZACHÉ B, WILCKEN CF, DACOSTA RR, SOLIMAN EP (2010a) *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), a new parasitoid of *Melanolophia consimilaria* (Lepidoptera: Geometridae). **Phytoparasitica**, v.38, p.355-357, 2010a.

ZACHÉ B, WILCKEN CF, ZACHÉ RRC, SOLIMAN EP, SAN ROMAN MLL (2010b) *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), un nuevo parasitoide de *Hypsipyla grandella* (Zeller, 1848) (Lepidoptera: Pyralidae). **Idesia** (Arica. Impresa 28: 111-114.

ZACHÉ B, ZACHÉ RRC, SOLIMAN EP, WILCKEN CF (2011a) Evaluation of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) as parasitoid of the eucalyptus defoliator *Euselasia eucerus* (Lepidoptera:Riodinidae). **International Journal of Tropical Insect Science** 20: 1-5.

ZACHÉ B, ZACHÉ RRC, SOUZA NM, DIAS TKR, WILCKEN CF (2011a) New record of *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (hymenoptera: eulophidae) parasitizing *Sarsina violascens* (herrich-schaeffer, 1856) (lepidoptera: Lymantriidae) in brazil. **Journal of plant protection research** 51: 420 – 422.

ZACHÉ B, ZACHÉ RRC, SOUZA NM, DALPOGETTO MHFA, WILCKEN CF (2012a) Evaluation of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) as parasitoid of the eucalyptus defoliator *Eupseudosoma aberrans* Schaus, 1905 (Lepidoptera: Arctiidae). **Biocontrol Science and Technology** 22: 363-366.

ZACHÉ B, WILCKEN CF, ZACHÉ RRC & SOUZA NM (2012b) New occurrence of *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) as a parasitoid of *Spodoptera cosmioides* Walker, 1858 (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Biota Neotropical** 12: 1-4.

ZANUNCIO JC, PEREIRA FF, JACQUES GC & TAVARES MT (2008) *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae), a new alternative host to rear the pupae parasitoid *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae). **The Coleopterists Bulletin** 62: 64-66.

CAPÍTULO 5. Armazenamento de fêmeas do parasitoide *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em baixas temperaturas

(Baseado nas normas do periódico Neotropical Entomology)

RESUMO: A eficiência do controle biológico é dependente da presença dos parasitoides no momento em que a praga inicia a colonização em uma proporção adequada. Uma vez que a necessidade de uso dos inimigos naturais apresenta uma demanda flutuante é desejável estocá-los por determinados períodos sem que ocorra a perda de sua viabilidade. Assim, parâmetros biológicos devem ser utilizados para avaliar o desempenho do parasitoide após o armazenamento a frio. O objetivo deste estudo foi avaliar as características biológicas de fêmeas de *T. diatraeae* quando armazenado em baixas temperaturas. Fêmeas adultas do parasitoide foram armazenadas nas temperaturas de 10, 18, 22 e 25ºC, pelos períodos de armazenamento de um, cinco, oito e 10 dias; posteriormente todos os tratamentos foram conduzidos em sala climatizada a 25ºC parasitando pupas de *Spodoptera frugiperda*. Foram avaliados a razão sexual, porcentagem de parasitismo, emergência, número de parasitoides emergidos, número de imaturos não emergidos. Não foi observada diferença entre as temperaturas em nenhum dos períodos de armazenamento, mostrando que este fator não tem influência sobre as taxas de parasitismo e emergência, enquanto o armazenamento acima de cinco dias demonstrou efeito negativo sobre taxas de parasitismo e emergência. Com um dia de armazenamento em todas as temperaturas foram encontradas taxas de parasitismo acima de 90%, enquanto que com 10 dias de armazenamento as taxas de parasitismo caíram para menos de 50%. Quanto ao número de parasitoides emergidos e não emergidos não houve diferença estatística entre as temperaturas de armazenamento assim como entre os períodos de armazenamento. Estes resultados comprovam que o parasitoide *T. diatraeae* pode ser armazenado por vários dias em baixas temperaturas, viabilizando sua utilização em programas de controle biológico.

Palavras chave: Armazenamento; parasitoide de pupa; controle biológico; lagarta do cartucho do milho.

Storage of parasitoid females *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) in low temperatures for use in biological control program

ABSTRACT: The efficiency of biological control is dependent on the presence of parasitoids at the moment the pest initiates colonization in an adequate proportion. Since the necessity of using natural enemies presents variable demand, it is desirable to stock them for determinate periods without incurring loss of their viability. Thus, biological parameters must be utilized to evaluate parasitoid performance after cold storage. This study aimed to evaluate biological characteristics of *T. diatraeae* females when stored at low temperatures. Adult parasitoid females were stored at the temperatures 10, 18, 22 and 25ºC, for unstored of one, five, eight and 10 days; subsequently all the treatments were applied in a climate-controlled room at 25ºC for parasitizing pupae of *Spodoptera frugiperda*. The sex ratio, parasitism percentage, emergence, and the numbers of emerged and immature non-emerged parasitoids were measured. No temperature difference was observed in any of the storage periods, showing that this factor has no influence on rates of parasitism and emergence. Storing for more than five days demonstrated a negative effect on parasitism and emergence rates; one-day storage at all temperatures produced parasitism rates above 90%, whereas 10 storage days decreased these rates to below 50%. The numbers of emerged and non-emerged parasitoids revealed no statistical difference between the storage temperatures and storage periods. These results prove that the parasitoid *T. diatraeae* can be stored for several days at low temperatures, enabling its use in biological control programs

Keywords: Storage; pupae parasitoid; biological control; fall armyworm

1. Introdução

Parasitoides são importantes para o equilíbrio de agroecossistemas pela diversidade e altos níveis de parasitismo (SOARES et al., 2009). O parasitoide pupal gregário *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae), preferencialmente primário e altamente polifago, vem se apresentando como candidato a programas de controle biológico (ANDRADE et al., 2010).

A eficiência do controle biológico é dependente da presença dos parasitoides no momento em que a praga inicia a colonização das plantas e de proporção adequada de parasitoide: hospedeiro (TREMBLAY, 1994). Entre as condições necessárias para que haja sucesso no controle biológico está à disponibilidade de armazenamento eficiente dos inimigos naturais (VAN LENTEREN, 2000). Uma vez que a necessidade de uso dos inimigos naturais apresenta demanda flutuante é desejável estocá-los por determinados períodos sem que ocorra a perda de sua viabilidade (BRADLEY et al., 2004).

O armazenamento de insetos em baixas temperaturas é parte importante do processo de criação massal para uso no controle de pragas. Muitos parasitoides podem ser armazenados, mas somente por um tempo curto, em temperaturas que variam de 4 a 15°C (VAN LENTEREN, 2000). Exceder os limites de tolerância para o armazenamento a frio pode comprometer a qualidade do inimigo natural (CHEN et al 2008).

Assim, parâmetros biológicos e reprodutivos como parasitismo, emergência, longevidade, fecundidade, número de indivíduos e capacidade de dispersão devem ser utilizados para avaliar a desempenho do parasitoide após o armazenamento a frio (LEOPOLD, 1998).

O objetivo deste estudo foi avaliar as características biológicas de fêmeas de *T. diatraeae* quando armazenadas em baixas temperaturas sobre pupas do hospedeiro alternativo *S. frugiperda*.

2. Material e Métodos

Os parasitoides utilizados neste experimento foram obtidos de pupas de *Iridopsis* sp. (Lepidoptera: Geometridae) e multiplicados em pupas de *S. frugiperda*. Fêmeas desse

parasitoide foram mantidas em tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro e 8,5 cm de comprimento) vedados com tecido tipo “voil” e alimentados com gotículas de mel. Pupas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) com 24 a 48 horas de idade foram expostas ao parasitismo para multiplicação desse parasitoide por 72 horas. Após esse período, as pupas parasitadas foram individualizadas em tubos de vidro, acondicionadas em bandejas plásticas em sala climatizada até a emergência dos adultos, conforme metodologia descrita por Zaché et al. (2010).

Os parasitoides utilizados nos experimentos, com até 12 horas de emergência, foram alimentados com mel puro e após a alimentação, armazenados em diferentes temperaturas (10, 18, 22 e 25 ºC) em câmaras BOD. Após determinada a longevidade os parasitoides foram armazenados e aspectos da biologia e fisiologia do parasitoide avaliados, tendo como objetivo constatar possíveis alterações causadas pelo armazenamento e pelas baixas temperaturas nas características biológicas do parasitoide.

As temperaturas testadas foram 10, 18, 22 e 25 ºC. Os períodos determinados para o armazenamento foram um, cinco, oito e 10 dias; posteriormente todos os tratamentos foram conduzidos em sala climatizada a 25ºC parasitando pupas de *S. frugiperda* com 12 h. Cada tratamento foi repetido 10 vezes e cada repetição foi composta de 10 parasitoides.

Após o período de armazenamento, os insetos foram aclimatizados em temperaturas crescentes (4 em 4 ºC) por período de 20 minutos em cada temperatura até atingir a temperatura do tratamento.

A manutenção dos experimentos foi diário para determinar porcentagem de parasitismo, emergência, número de parasitoides emergidos, número de imaturos de *T. diatraeae* que não completaram seu desenvolvimento . Não foi avaliada a razão sexual uma vez que a população utilizada no experimento era á 30º geração partenogenética telítoca. Sendo assim todos os indivíduos emergidos neste experimento eram fêmeas.

O experimento foi conduzido em esquema fatorial 4 x 4 com os fatores representados pelas quatro temperaturas (10, 18, 22 e 25ºC) e os quatro períodos de armazenamento (1, 5, 8 e 10 dias), com 10 repetições. O delineamento estatístico utilizado para avaliar os parâmetros dos experimentos foi inteiramente casualizado. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de

probabilidade para os dados paramétricos. Os dados não paramétricos foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$).

3. Resultados e Discussão

Não foi observada diferença entre as temperaturas em nenhum dos períodos de armazenamento mostrando que esse fator não tem influência sobre as taxas de parasitismo e emergência. Com um dia de armazenamento em todas as temperaturas foram encontradas taxas de parasitismo acima de 90%, entretanto, o armazenamento acima de cinco dias demonstrou efeito negativo sobre taxas de parasitismo e emergência. Para o armazenamento com 10 dias de armazenamento as taxas de parasitismo caíram para menos de 50% (Tabela. 1). A redução na emergência de descendentes de *T. diatraeae* com o aumento da idade de suas fêmeas pode ser atribuído à diminuição da capacidade de parasitismo e do número de ovos em função do envelhecimento (UÇKAN & GÜLLEL 2002, Jacas et al 2005). Fato semelhante foi obtido por Ribeiro (2010) que encontrou taxas de parasitismo e emergência acima de 90% em pupas de *Brassolis sophorae* com fêmeas de *T. diatraeae* com até 96 h de idade.

A queda das taxas de parasitismo e emergência após oito dias de armazenamento pode ser explicada como com reflexo nos períodos de pré-oviposição, oviposição e pós-oviposição, com o aumento da idade (AMALIN et al., 2005). Fêmeas atingem picos de fecundidade a partir da metade do período da vida adulta e declina até sua morte (AYVAZ et al., 2008). A obtenção de descendentes de *T. diatraeae* em pupas do hospedeiro alternativo *S. frugiperda* com até 10 dias a 10ºC indica que *T. diatraeae* pode utilizar os recursos desse hospedeiro.

Tabela 1. Taxa de parasitismo e emergência de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *S. frugiperda* utilizando fêmeas armazenadas a diferentes tempos de exposição à diferentes temperaturas.

	Parasitismo[(ns)]				
	1D	5D	8D	10D	P
10°C	90%A	90%A	60%B	50%B	0,0005
18°C	100%A	100%A	60%B	50%B	0,0001
22°C	90%A	80%A	50%B	40%B	0,0001
25°C	90%A	70%B	50%C	40%C	0,0001
P	0,8469	0,1175	0,6110	0,5276	
	Emergência[(ns)]				
	1D	5D	8D	10D	P
10°C	90%A	80%aA	50%B	50%B	0,0003
18°C	100%A	90%aA	60%B	60%B	0,0009
22°C	90%A	70%abB	60%C	60%C	0,035
25°C	80%A	50%bB	40%C	40%C	0,0001
P	0,5276	0,0072	0,1552	0,1552	

[(1)] Médias seguidas pela mesma letra minúsculas em cada coluna e maiúsculas nas linhas não diferem pelo teste de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$)

[(ns)] Não significativo pelo teste de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$)

Quanto ao número de parasitoides emergidos e não-emergidos pode-se observar que não houve diferença estatística (Tabela 2) entre as temperaturas de armazenamento assim como ao períodos de armazenamento. O número de indivíduos emergidos de *T. diatraeae* não se alterou após o armazenamento como relatado para *Oomyzus sokolowskii* (Hymenoptera: Eulophidae) em larvas de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) e *Anagyrus kamali* (Hymenoptera: Encyrtidae) em ninfas e adultos de *Maconellicoccus hirsutus* (Hemiptera: Pseudococcidae) (SILVA-TORRES et al 2009). Além disso, a densidade do parasitoide

Anagyrus sp. (Hymenoptera: Encyrtidae) foi suficiente para ovipositar quantidade de ovos que compensasse a baixa qualidade do parasitoide armazenado (CHONG & OETTING 2007). O hospedeiro pode suportar número limitado de descendentes do parasitoide (COOPERBAND et al 2003) e esse limite foi alcançado em função da densidade de parasitoide que reduziram a capacidade defensiva (ANDRADE et al 2010).

Tabela 2. Número de parasitoides emergidos (NPE), não emergidos (NE), de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) utilizando fêmeas armazenadas a diferentes tempos de exposição à diferentes temperaturas.

	(NPE) [ns]				
	10°C	18°C	22°C	25°C	P
1D	83,5±3,8	89,5±4,4	76,2±14,5	87,5±3,6	0,501
5D	85,3±3,7	89,5±4,4	55,9±16,5	83,8±5,3	0,754
8D	88,0±3,2	91,0±6,0	50,0±17,9	79,5±6,8	0,564
10D	87,6±5,7	97,0±3,7	54,4±18,7	76,0±11,0	0,094
P	0,865	0,668	0,774	0,623	
	(NE) [ns]				
	10°C	18°C	22°C	25°C	P
1D	2,0±0,4	4,0±0,9	6,7±1,3	4,3±0,8	0,634
5D	2,0±0,3	4,0±0,9	7,3±1,0	3,4±1,2	0,543
8D	2,0±0,5	4,0±1,5	6,8±1,0	5,4±1,5	0,674
10D	2,5±0,5	4,5±0,5	9.6±1,3	8,6±0,4	0,521
P	0,880	0,307	0,264	0,406	

[ns] Não significativo pelo teste de Tukey a 5%.

Essas informações são importantes, pois comprovam que *T. diatraeae* se reproduz com facilidade mesmo quando armazenados por longos períodos de tempo a baixas temperaturas podendo ser criado em hospedeiros cujas metodologias de criação são conhecidas, e, por ser generalista, esse inimigo natural pode permanecer em campo com sucesso mesmo quando não encontra seu hospedeiro por vários dias, o que o caracteriza como agente eficiente no controle biológico.

4. Referências

AMALIN DM, PENA JE, DUNCAN RE (2005) Effects of host age, female parasitoid age, and host plant on parasitism of *Ceratogramma etiennei* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Florida Entomologist** 88: 77-82.

ANDRADE GS, SERRÃO JE, ZANUNCIO JC, ZANUNCIO TV, LEITE GLD, POLANCZYK RA (2010) Immunity of an alternative host can be overcome by higher densities of its parasitoids *Palmistichus elaeisis* and *Trichospilus diatraeae.* **PLoS One** 5: 13231.

AYVAZ A, KARASU E, SALIH K, AYDLN ST (2005) Effects of cold storage, rearing temperature, parasitoid age and irradiation on the performance of *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Journal of Stored Products Research** 44: 232-240.

CHEN W-L, LEOPOLD RA, HARRIS MO (2008) Cold storage effects on maternal and progeny quality of *Gonatocerus ashmeadi* Girault (Hymenoptera: Mymaridae). **Biological Control** 46: 122- 132.

CHONG JH, OETTING RD (2007) Functional response and progeny production of the Madeira mealybug parasitoid, *Anagyrus* sp. nov. nr. *sinope*: The effect of host stage preference. **Biological Control** 41: 78-85.

COOPERBAND MF, MATTHEWS RW, VINSON SB (2003) Factors affecting the reproductive biology of *Melittobia digitata* and failure to meet the sex ratio predictions of Hamilton's local mate competition theory. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 109: 1-12.

JACAS JA, PEÑA JE, DUNCAN RE, ULMER BJ (2008) Thermal requirements of *Fidiobia dominica* and *Haeckeliania sperata*, two exotic egg parasitoids of *Diaprepes abbreviatus*. **BioControl** 53: 451-460.

LENTEREN JC (2000) Success in biological control of arthropods by augmentation of natural enemies. In: GURR G.; WRATTEN S. (Ed.). **Biological Control: measures of success**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers 3: 77-103.

LEOPOLD RA (1998) Cold storage of insects for integrated pest management. p. 235-267. In Hallman GJ, Denlinger DL (eds.) **Temperature sensitivity in insects and application in integrated pest management**. Westview Press, Boulder, 314p.

SILVA-TORRES CSA, BARROS R, TORRES JB (2009) Efeito da idade, fotoperíodo e disponibilidade de hospedeiro no comportamento de parasitismo de *Oomyzus sokolowskii* Kurdjumov (Hymenoptera: Eulophidae). **Neotropical. Entomology** 38: 512-519

SOARES MA, GUTIERREZ CT, ZANUNCIO JC, PEDROSA ARP & LORENZON AS (2009) Superparasitismo de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) comportamiento de defensa de dos hospederos. **Revista Colombiana de Entomología** 35: 62-65

TREMBLAY E (1994) Management of the host-parasitoid relationships in endophagous Hymenoptera. **Bulletin OILB/SROP** 7: 285-361.

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

ZACHÉ B, WILCKEN CF, DACOSTA RR, SOLIMAN EP (2010) *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), a new parasitoid of *Melanolophia consimilaria* (Lepidoptera: Geometridae). **Phytoparasitica** 38: 355-357.

CAPÍTULO 6- Distribuição espacial do parasitoide *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) sobre pupas de *Melanolophia consimilaria* (Lepidoptera: Geometridae) em plantação de eucalipto

(Baseado nas normas do periódico Neotropical Entomology)

RESUMO: *Trichospilus diatraeae* tem sido estudado no Brasil para controle de pragas florestais. No entanto, seu sucesso depende da capacidade de busca, por isso o objetivo desse estudo foi avaliar a dispersão de *T. diatraeae* em plantação de eucalipto com infestação de *Melanolophia consimilaria*. Neste experimento 50.000 parasitoides foram liberados na área central do experimento sendo as avaliações realizadas após 24 h nas quatro direções cardeais (norte, sul, leste, oeste) para pupas e nas quatro direções colaterais (nordeste, noroeste, sudeste e sudoeste) para número de parasitoides nas armadilhas amarelas adesivas em cinco distâncias, em círculos concêntricos a cinco, 15, 30, 60 e 100 m. Foram selecionados nove pontos de avaliação na distância de 100 m, sete pontos na distância de 60 m, cinco pontos na distância de 30 m, três para distância de 15 m e um para distância de cinco metros. Em cada ponto amostral foram recolhidas 10 pupas no solo ou uma armadilha amarela presa à árvore. Após 20 dias todos os pontos amostrais nos pontos cardiais e colaterais foram, avaliadas com armadilhas adesivas amarelas. Houve aumento do parasitismo com o aumento da distância do ponto de liberação nas distâncias acima de 30 m, com média de 24,8%, enquanto que na maior distância houve a maior taxa de parasitismo (37,9%). Quanto ao número de insetos nas armadilhas não houve diferença estatística entre as direções colaterais sudeste e nordeste em nenhuma distância, enquanto a região sudoeste teve maior número de insetos 249 parasitoides tendo diferença a partir da distância de 30 metros, sendo que a distância de 60 metros apresentou média de 79 parasitoides, enquanto que a 100 metros foram encontrados 229 parasitoides, em média.

Palavras chave: Controle biológico, dispersão, parasitoide de pupa, *Eucalyptus*

Dispersal and spatial distribution of the parasitoid *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) over *Melanolophia consimilaria* (Lepidoptera: Geometridae) in Eucalyptus plantation

ABSTRACT: *Trichospilus diatraeae* has been studied in Brazil to control forest pests. However, its success depends on the search capacity; thus the present study aimed to evaluate the dispersion of *T. diatraeae* in a commercial eucalyptus plantation infested by *M. consimilaria*. In this experiment 50,000 parasitoids were released into a central area and evaluated after 24h in the four cardinal directions (north, south, east, west) for pupae and in four collateral directions (northeast, northwest, southeast and southwest) by the number of parasitoids in yellow traps at five distances, in concentric circles at five, 15, 30, 60 and 100 m. Nine evaluation points were selected at a distance of 100 m, seven points at 60 m, five points at 30 m, three points at 15 m and one point at five meters; at each sampling point 10 pupae were collected from the soil or caught in a yellow trap. After 20 days all the sampling points in the cardinal and collateral directions were evaluated with yellow traps. There was augmentation of parasitism as the distance from the release point increased; distances above 30 meters showed a mean of 24.8%, while the greatest distance presented the highest parasitism rate (37.9%). The number of insects in the traps did not differ statistically between the southeast and northeast collateral directions at any distance, while the southwest region had the highest number of insects (249 parasitoids), with difference commencing at the distance of 30 meters; the 60-meter distance presented a mean of 79 parasitoids while the greatest distance (100 meters) averaged 229 parasitoids.

Keywords: biological control, dispersion, pupae parasitoid, *Eucalyptus*

1. Introdução

As lagartas desfolhadoras são o segundo grupo de pragas de maior importância para as plantações de eucalipto no Brasil, logo após as formigas cortadeiras. Na última década têm surgido novas espécies de lepidópteros desfolhadores de eucalipto no país. Uma dessas novas espécies é *Melanolophia consimilaria* (Lepidoptera: Geometridae), conhecida por lagarta mede-palmo. Essa espécie tem ocorrido em plantios clonais de eucalipto, causando desfolhas expressivas da copa das plantas e necessitando de medidas de controle (FIRMINO et al., 2008). Uma alternativa para combater este grupo de pragas é o controle biológico com o uso de parasitoides, medida de controle que vem contribuído para a redução do uso de inseticidas químicos.

Trichospilus diatraeae Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) é uma espécie de parasitoide asiático que parasita principalmente pupas de lepidópteros e tem sido estudado como agente potencial no controle biológico de pragas de importância nas culturas de cana-de-açúcar, milho e algodão em países da África, Ásia e Américas (Boucek, 1976). No Brasil tem se iniciado estudos de técnicas de criação massal, armazenamento, envio para programas de controle biológico de pragas florestais.

Estudos sobre a dispersão de inimigos naturais demonstraram a importância do movimento na eficiência de liberações constantes (SAAVEDRA et al., 1997) e no estabelecimento de insetos para o controle de pragas (HOPPER & ROUSH, 1993). Os fatores físicos, tais como temperatura, vento e umidade, podem influenciar os padrões de dispersão de agentes de controlo biológico, em particular de pequenos organismos, como parasitoides, e, assim, desempenhar um papel importante no controle biológico por liberação inundativa. Apesar do papel crítico do movimento, há acentuada falta de informação sobre a mobilidade dos agentes de controle biológico (CORBETT & ROSENHEIM, 1996).

Para obter sucesso em campo o parasitoide deve ser capaz de encontrar e parasitar a praga no campo e o conhecimento da capacidade de dispersão de um parasitoide é fundamental para se determinar o número de pontos de liberação por unidade de área, pois deste número depende maior ou menor eficiência de controle (DE SÁ et al., 1993).

Alguns autores citam o método de liberação e a distribuição uniforme do parasitoide como principais fatores que influenciam sua eficiência (PINTO & PARRA, 2002).

Conhecendo os fatores abióticos que interferem na distribuição de parasitoides em campo podemos concluir que o ambiente florestal se mostra vantajoso sobre o ambiente agrícola, uma vez que o microclima florestal caracteriza-se, principalmente, pela diminuição da luz que penetra através da cobertura das árvores, diminuindo assim a temperatura no interior do cultivo, aumentando a umidade e diminuindo a força dos ventos (DAJOZ, 1978).

O objetivo deste trabalho foi conhecer a dispersão do parasitoide *T. diatraeae* em plantação de eucalipto.

2. Material e Métodos

O experimento foi conduzido na fazenda Manto Verde, em Lençóis Paulista, SP, em junho de 2011, em plantação clonal de eucalipto (*Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*) com quatro anos de idade e espaçamento de 2x3 m. Nessa área havia infestação da lagarta mede-palmo *Melanolophia consimilaria* (Lepidoptera: Geometridae) desde abril de 2011, conforme monitoramento feito na área. As pupas de *M. consimilaria* foram coletadas e acondicionadas até emergência dos parasitoides e as armadilhas adesivas amarelas foram contadas no laboratório de controle biológico de pragas florestais da FCA/UNESP - Campus de Botucatu. Adultos do parasitoide *T. diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) utilizados no experimento foram produzidos conforme metodologia de Zaché et al. (2010). Os dados meteorológicos foram fornecidos pela estação experimental da empresa Suzano Papel e Celulose, localizada a aproximadamente 8 km do local da realização do experimento.

Antes da instalação dos experimentos foram feitas análises preliminares da área em cada ponto de avaliação (Figura 1), sendo foi feita a levantamento de 10 pupas de *M. consimilaria* desenterrando-as do solo até 50 cm de distância do tronco das árvores e 3 cm de profundidade. Essas pupas foram acondicionadas em tubos de vidro de fundo chatos e fechados com tecido “voil”, e levadas ao laboratório, onde foram mantidas a 25 ± 2ºC para determinação da existência prévia desse parasitoide na área. Em quatro pontos de cada ponto cardeal (norte, sul, leste, oeste) e colaterais (nordeste, noroeste, sudeste e sudoeste), foi feito o levantamento do número de pupas por metro quadrado, retirando-se a serapilheira e com e recolhendo-se as pupas na superfície e enterradas até 3 cm.

Os parasitoides criados em laboratório foram liberados em um total de 50.000 indivíduos de *T. diatraeae*, com idade de 12 horas após emergência, foram previamente acondicionados em tubos de vidro de fundo chato fechados com tecido "voil", alimentados com uma gota de mel. Os tubos com os parasitoides foram acondicionados em caixa térmica para o transporte até o campo.

Os parasitoides foram liberados na área central do experimento, sendo as avaliações realizadas nas quatro direções cardeais (norte, sul, leste, oeste) para avaliação do parasitismo de pupas em cinco distâncias a partir do centro de liberação, em círculos concêntricos a cinco, 15, 30, 60 e 100 m. O número de pontos amostrais foi variável de acordo com as distâncias. Foram selecionados nove pontos com distância entre eles de cinco metros, distribuídos regularmente na distância de 100 m, sete pontos na distância de 60 m, cinco pontos na distância de 30 m, três para distância de 15 m e um para distância de cinco metros em cada ponto amostral foram recolhidas 10 pupas no solo (Figura 1). As pupas de *M. consimilaria* foram coletadas com auxílio de um rastelo a até 50 cm do tronco da árvore anteriormente marcada até a profundidade de 3 cm, após 24h da liberação dos parasitoides, sendo as pupas acondicionadas em tubos de vidro de tubo chatos e fechados com tecido voil", e levados ao Laboratório de Controle Biológico de Pragas Florestais, onde foram mantidas em condições controladas (temperatura de 25 ± 2ºC e fotofase de 12 h) para determinação da porcentagem de parasitismo.

No solo foram fixadas armadilhas amarelas em cinco distâncias a partir do centro de liberação e as avaliações realizadas nas quatro direções colaterais (Figura 1) (nordeste, noroeste, sudeste e sudoeste). Para cada direção colateral o número de parasitoides foi avaliado em cinco, 15, 30, 60 e 100 m, sendo nove pontos de avaliação a 100 metros, sete pontos a 60 metros e cinco pontos a 30 metros, três a 15 metros e um ponto a cinco metros, dispostos em círculos concêntricos (Figura 1). Após o período de 24h, as armadilhas amarelas foram recolhidas, envoltas em PVC laminado, catalogadas e encaminhadas ao laboratório para contagem dos parasitoides coletados.

Após 20 dias da liberação dos parasitoides foram fixadas armadilhas amarelas em cinco distâncias a partir do centro de liberação e as avaliações realizadas nas quatro direções cardeais (norte, sul, leste, oeste) e nas quatro direções colaterais (nordeste, noroeste, sudeste e sudoeste). Para cada direção o número de parasitoides foi avaliado em cinco, 15, 30, 60 e 100

m, sendo 72 pontos de avaliação a 100 metros, 56 pontos a 60 metros e 45 pontos a 30 metros, 24 a 15 metros e oito pontos a cinco metros, dispostos em círculos concêntricos (Figura 1). Após o período de cinco dias, as armadilhas amarelas foram recolhidas, envoltas em PVC laminado, catalogadas e encaminhadas ao laboratório para contagem dos parasitoides coletados.

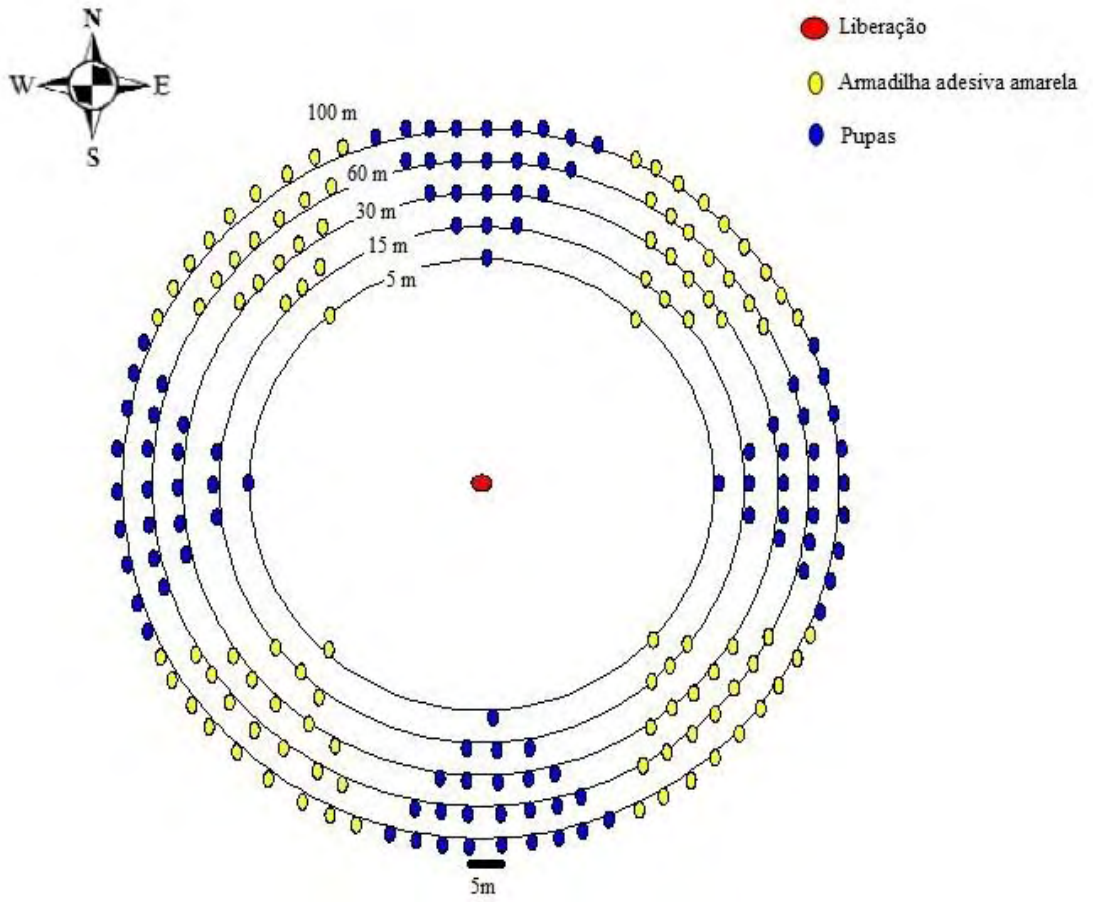


Figura 1. Área experimental em plantação de eucalipto com ponto central de liberação de *Trichospilus diatraeae* e posição das armadilhas adesivas amarelas e local de coleta de pupas de *Melanolophia consimilaria* em diferentes distâncias. Lençóis Paulista, SP, junho de 2011.

Os dados referentes ao número de pupas parasitadas, e número de parasitoides encontrados nos cartões amarelos, tanto após 24 h quanto após 20 dias, foram submetidos à análise geoestatística, utilizando semivariogramas, a partir dos quais foram ajustados modelos para a interpolação das variáveis, em etapa subsequente, foram confeccionados os mapas populacionais, gerados por krigagem ordinária. Os mapas foram gerados com o número de classes variando de acordo com a densidade populacional, com intervalo fixo de cinco parasitoides.

Tanto a análise geoestatística quanto os mapas populacionais foram elaborados com o programa computacional GS+, como descrito por VIEIRA et al. (1983). Para a análise da dependência espacial, foi utilizada a classificação de CAMBARDELLA et al. (1994), que considera de forte dependência espacial o semivariograma que tem o valor do efeito pepita menor que 25% do patamar, moderada dependência quando o valor estiver entre 25 e 75% e de fraca dependência quando maior de 75%.

O experimento para o número de parasitoides nas armadilhas amarelas nos pontos colaterais e pupas parasitadas nos pontos cardeais com 24 h pós-liberação foi conduzido em esquema fatorial 4 x 5 (Direção e Distância). O delineamento estatístico utilizado para avaliar os parâmetros dos experimentos foi inteiramente casualizado. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade para os dados paramétricos. Os dados não paramétricos foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$).

3. Resultados e Discussão

O número médio de pupas por área foi de 28,9 pupas/m^2. Quanto à avaliação da existência prévia do parasitoide nesta área, o resultado foi negativo, ou seja, não houve emergências de *T. diatraeae* nas pupas de *M. consimilaria* trazidas do campo. Portanto, o experimento para determinação da capacidade de dispersão e de parasitismo possivelmente não teve influência de parasitoides previamente presentes na área.

Tanto a taxa de parasitismo quanto ao número de parasitoides nas armadilhas amarelas variaram estatisticamente em todas as direções, com o aumento das distâncias a partir de 30 m. A direção sul apresentou maior porcentagem de pupas parasitadas, com 24,8% ($p < 0,0001$).

Com relação às distâncias, a maior taxa de parasitismo foi verificada na distância de 100 m, com 37,9% de parasitismo ($p < 0.0178$), seguida da direção oeste sendo que norte e leste não diferiram estatisticamente. Quanto à avaliação de adultos de *T. diatraeae* pelos métodos de armadilhas adesivas amarelas, não houve diferenças significativas em relação ao número de adultos capturados entre as direções colaterais sudeste e nordeste, em nenhuma das distâncias estudadas. A posição sudoeste teve maior número de insetos (249 parasitoides) sendo que houve diferença significativa a partir da distância de 30 metros. Os resultados das taxas de parasitismo sugerem dificuldade de *T. diatraeae* em localizar hospedeiros nas menores distâncias a partir do ponto de liberação ou que o número de parasitoides liberados, em relação ao número de árvores, tenha sido insuficiente para alcançar maior percentual de parasitismo.

O aumento do parasitismo nas armadilhas mais distantes do ponto de liberação pode estar relacionado ao fato desses parasitoides apresentarem forte geotropismo negativo. Uma vez no ponteiro das árvores, os parasitoides se dispersam com auxílio do vento, que parece exercer grande influência sobre a dispersão, pois a distribuição dos parasitoides teve forte tendência para o sudoeste e as medições meteorológicas mostraram que durante as 24 h posteriores à liberação, a direção predominante do vento foi sudoeste, mostrando que apesar de não realizarem vôos longos estes parasitoides podem se dispersar eficientemente. A distância de recaptura depende do comportamento do parasitoide, do tempo após a liberação, do tamanho da área experimental (CANTO‐SILVA et al., 2006) das plantas (SUVERKROPP et al., 2009), das características intrínsecas da espécie (GRANCE, 2010), dos fatores climáticos (FOURNIER & BOIVIN, 2000) e do número de liberações (KERHLI et al., 2005)

Ainda outros fatores podem interferir no comportamento de busca, como a alimentação prévia dos parasitoides, a manipulação do hospedeiro, que pode reduzir os cairomônios, comparado à quando o hospedeiro se instala naturalmente na planta (SUVERKROPP et al., 2008). A existência ou concentração desses cairomônios podem ser alteradas por vários fatores e mudar com a migração, predação ou fatores climáticos, como precipitação pluviométrica (SPATARO & BERNSTEIN, 2007) e temperatura (PANDEY & TRIPATHI, 2008).

Os mecanismos de localização e parasitismo de hospedeiros no campo por *T. diatraeae* são pouco conhecidos. Além disso, pode haver redução nas taxas de parasitismo, pois o

parasitoide mantém o hospedeiro em baixa densidade populacional, sem eliminá-lo, garantindo o futuro da sua própria descendência (SAGARRA et al., 2000).

Para distribuição dos parasitoides através da detecção de pupas parasitadas após 24h, o modelo proposto inicialmente é um modelo exponencial, com efeito pepita (C0) de 0,01 $(\%)^2$, patamar (C0 +C) de 4,2 $(\%)^2$ e alcance (a) de 48,9 m. Nesse caso, o semivariograma mostrou dependência espacial para a distribuição dos parasitoides de 48,9 m, ou seja, no caso da utilização de métodos de análises estatísticas que consideram independência entre amostras, a distância de amostragem mínima deveria ser de 48,9 m. Nota-se que a variável de número de pupas de *M. consimilaria* apresentou dependência espacial, que pode ser descrita pelo modelo exponencial. A relação entre o efeito pepita e o patamar de 0,23%, indica que a dependência espacial é forte. Como o alcance máximo encontrado foi de 170,89 m como a maior distância foi de 100 metros foi adequada e possibilitou a correta detecção da distribuição espacial dos parasitoides. (Figura. 2).

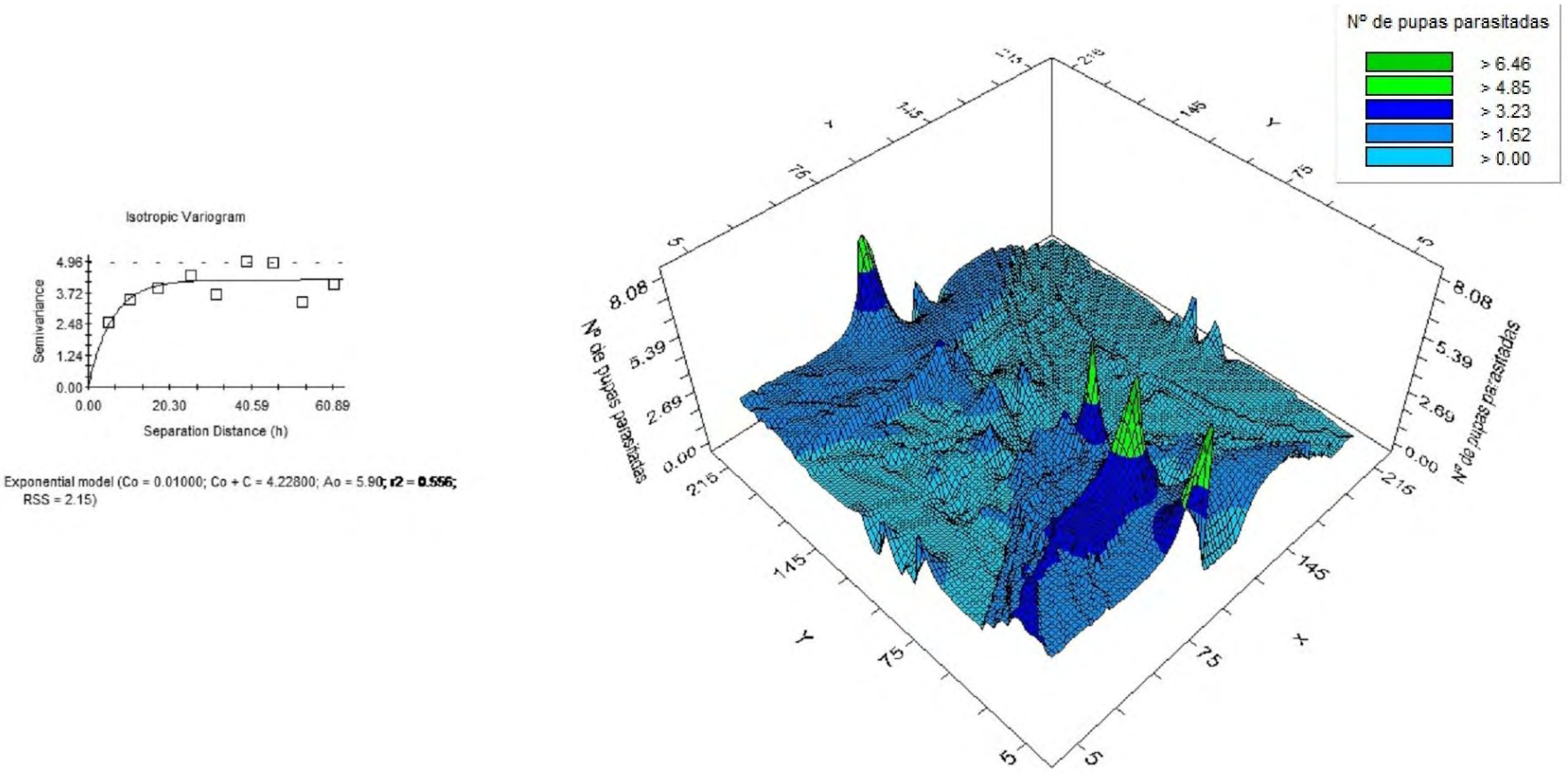


Figura 2. Semivariograma e mapa de Krigagem mostrando a distribuição espacial de *T. diatraeae* em pupas liberados em plantio de eucalipto. Lençóis Paulista, SP. Junho de 2011.

Este resultado evidencia que os parasitoides se distribuem de forma agregada na área. Segundo, Liebhold et al. (1993), quando existe dependência espacial entre os pontos amostrados, a distribuição dos insetos é caracterizada como agregada, e, nesse caso, a geoestatística é a ferramenta mais adequada para estudar as populações de insetos.

Os mapas da distribuição espacial dos parasitoides foram construídos com os dados da densidade total (Figura 3). Pode-se observar três picos de agregação no sul e um pico de agregação no norte, onde mais de 6,46 pupas parasitadas foram encontradas, evidenciando a distribuição agregada destes insetos.

Para distribuição dos parasitoides através da detecção de parasitoides em armadilhas amarelas adesivas após 24 h, o modelo proposto inicialmente é um modelo exponencial, com efeito pepita (C0) de 0,01 $(\%)^2$, patamar (C0 +C) de 14,1 $(\%)^2$ e alcance (a) de 54,29 m. Neste caso o semivariograma mostrou dependência espacial para a distribuição dos parasitoides de 54,29 m, ou seja, no caso da utilização de métodos de análises estatísticas que consideram independência entre amostras, a distância de amostragem mínima deveria ser de 54,29 m. A relação entre o efeito pepita e o patamar de 0,07%, indica que a dependência espacial é forte. Como o alcance máximo encontrado foi de 156,20 m como a maior distância foi de 100 metros foi adequada e possibilitou a correta detecção da distribuição espacial dos parasitoides (Figura 3). Pode-se constatar dois picos de dispersão na direção colateral sudoeste, com recaptura acima de 21,9 parasitoides, com provável efeito da direção do vento.

Hendricks (1967) avaliou, sob diferentes condições, os efeitos do vento na dispersão de *Trichogramma semifumatum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) 24 horas após a liberação em um campo de algodão, para o controle de *Heliothis* spp. Os resultados obtidos demonstraram a influência do vento na dispersão destes parasitoides, pois após as liberações obteve-se um ótimo estabelecimento da população, assim como elevada porcentagem de parasitismo. O clima é, provavelmente, o mais importante fator que influi na dispersão, já que há um complexo de variáveis meteorológicas que afetam o desenvolvimento, emergência, sobrevivência, atividade e fecundidade dos parasitoides. Entre os fatores climáticos com maior influência considera-se a temperatura e a umidade relativa (KING et al., 1985).

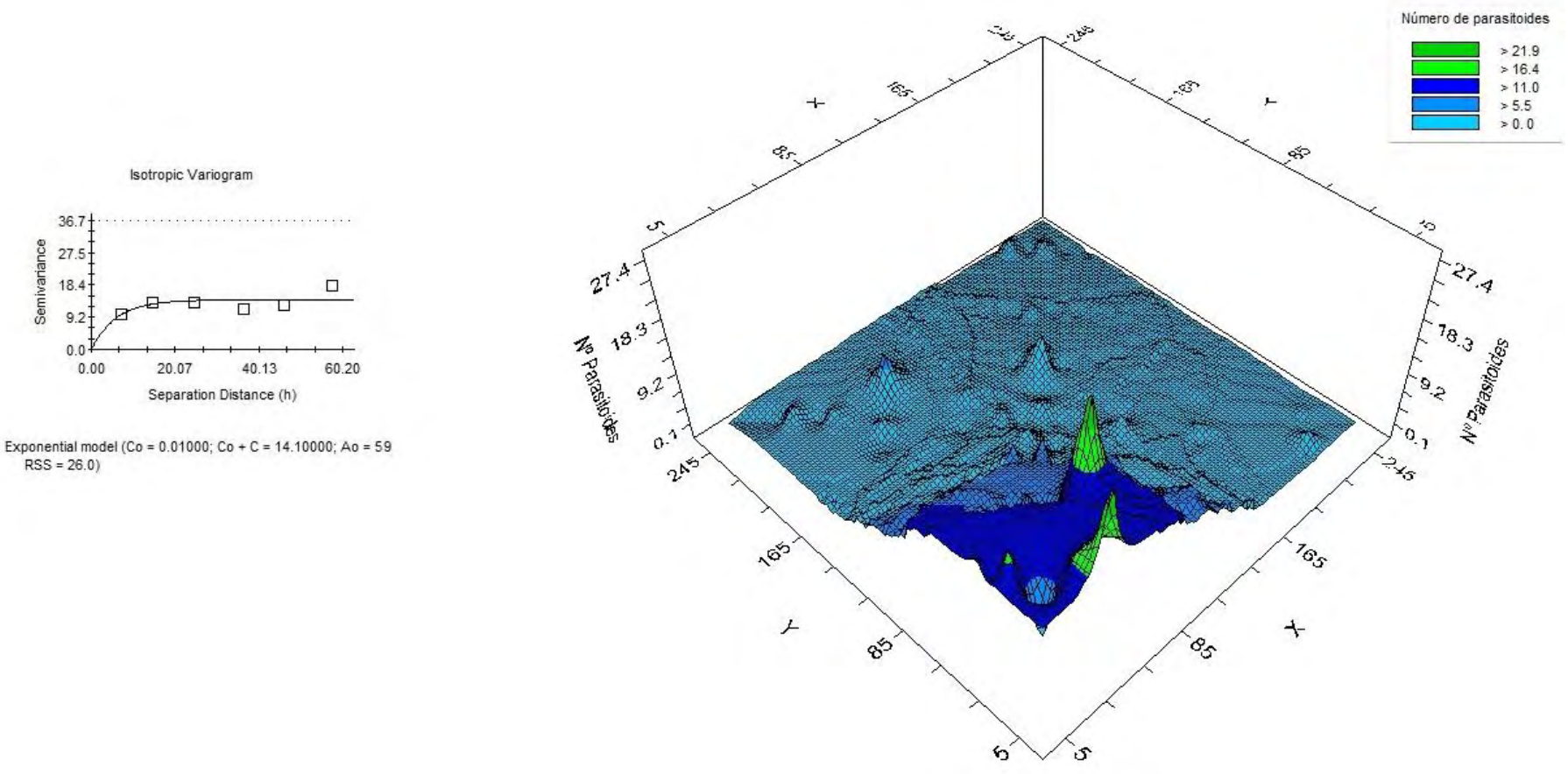


Figura 3. Semivariograma e mapa de krigagem mostrando a distribuição espacial de *T. diatraeae* coletados em armadilhas adesivas amarelas em plantio de eucalipto. Lençóis Paulista SP.2011

Para distribuição dos parasitoides através da captura dos mesmos nas armadilhas amarelas após 20 dias da liberação o modelo proposto inicialmente foi o modelo gausiano, com efeito pepita (C0) de 22,3 $(\%)^2$, patamar (C0 +C) de 79,8 $(\%)^2$ e alcance (a) de 60,89 m. Neste caso, o semivariograma mostrou dependência espacial para a distribuição dos parasitoides de 60,89 metros, ou seja, amostras coletadas a distância de 60,89 m possui dependência espacial e, no caso da utilização de métodos de análises estatísticas que consideram independência entre amostras, à distância de amostragem mínima deveria ser de 60,89m. A relação entre o efeito pepita e o patamar de 27,8%, indica que a dependência espacial é moderada. (Figura 4). Também foi verificada forte distribuição na direção sudoeste e um pico de densidade na direção norte, mostrando que a emergência de adultos de *T. diatraeae* da segunda geração seguiu o padrão de dispersão dos parasitoides inicialmente liberados durante o experimento. Durante os 20 dias pós-liberação, a pluviosidade acumulada foi de 89 mm, temperatura média de 22,7^{o}C, e 65,1% de umidade relativa, que aparentemente não interferiu na dispersão do parasitoide.

Segundo Smith (1996), o complexo de variáveis meteorológicas afeta o desenvolvimento, emergência, sobrevivência, atividade e fecundidade. O estabelecimento em campo de agentes de controle biológico pode ser diretamente influenciado pelos fatores climáticos, principalmente a chuva, quando ela ocorre após a liberação (Norris et al. 2002). O comportamento da dispersão de *Trichogramma ostriniae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), agente potencial para o controle de *Ostrinia nubilalis* em milho doce, foi avaliado por Wright et al. (2001), demonstrou-se que a dispersão do parasitoides foi de 180 m em 6 dias e 230 m em 21 dias. Esses autores comprovaram ainda que a porcentagem de parasitismo diminuiu à medida que se aumentava a distância do ponto de liberação, indicando assim a importância de distribuição apropriada do parasitoide para maior eficiência de controle.

Kuske et al. (2003) realizaram estudos de dispersão e de permanência nas áreas adjacentes à cultura de milho utilizando *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), para o controle de *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae), após liberações inundativas durante 3 anos. Foram colocadas armadilhas no campo de milho e na vegetação circundante; com este trabalho, demonstrou-se que o número de parasitoides capturados foi decrescente acima dos 40m.

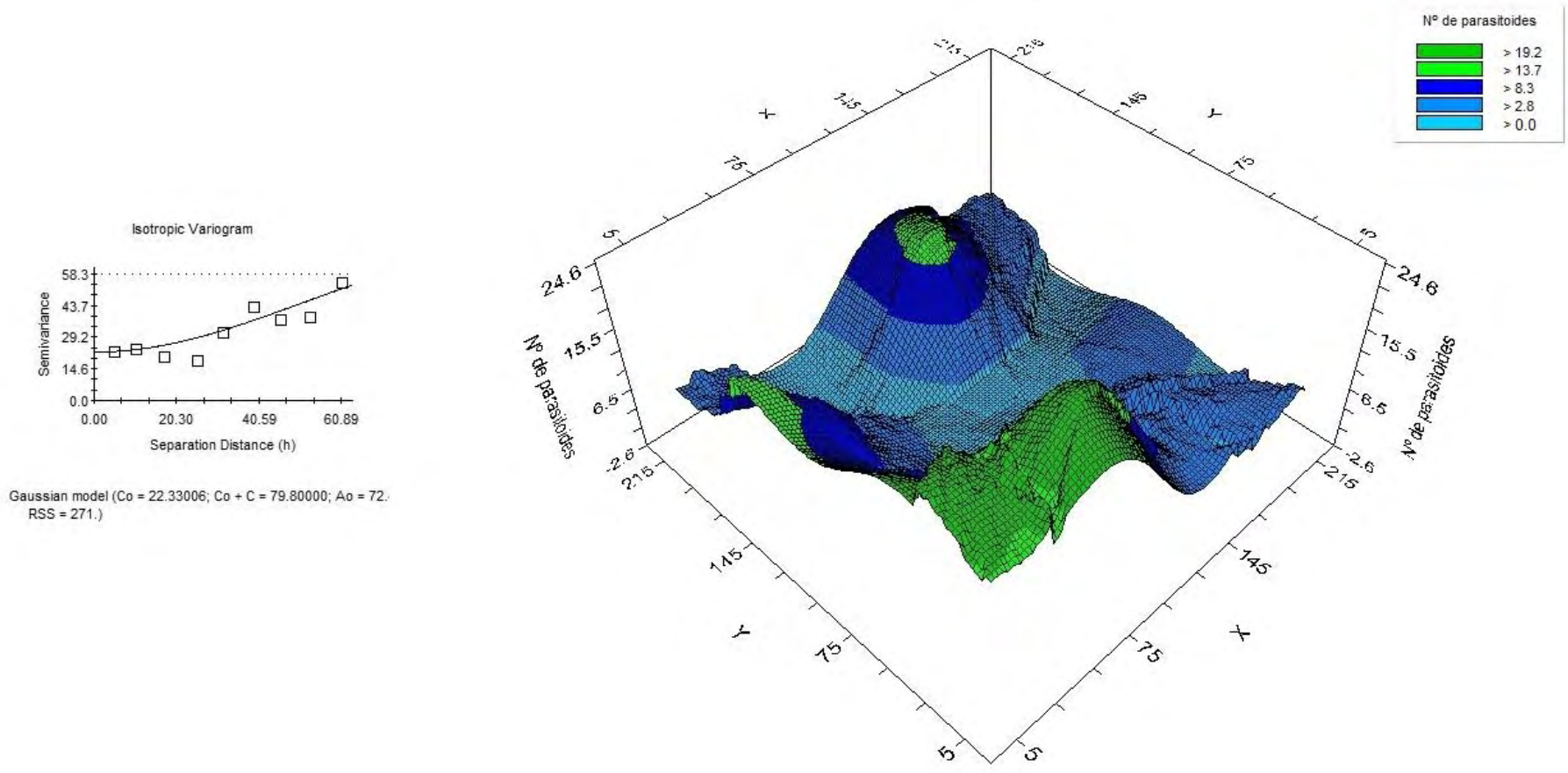


Figura 4. Semivariograma e mapa de Krigagem mostrando a distribuição espacial de *T. diatraeae* em armadilhas adesivas amarelas após 20 dias de liberação em plantio de eucalipto. Lençóis Paulista, SP. Junho de 2011.

A dispersão do parasitoide em plantio de eucalipto para controle de *M. consimilaria* se mostrou melhor em distâncias acima de 30 m. Em todas as avaliações os insetos se dispersaram de forma agregada, havendo correlação entre a distância e o número de parasitoides ou pupas parasitadas. Também se observou grande interferência de fatores ambientais sobre a dispersão de *T. diatraeae*, principalmente o vento, que se mostrou como fator predominante na orientação da dispersão desse parasitoide. Novos estudos devem ser realizados para que este fenômeno seja melhor entendido, dando subsídios para a utilização deste parasitoide em programas de controle biológico.

4. Referências

BOTELHO PM (1997) Eficiência de *Trichogramma* em campo. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). ***Trichogramma* e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: Fealq, p.303-318.

BOUČEK Z (1976) The African and Asiatic species of *Trichospilus* and *Cotterellia* (Hymenoptera: Eulophidae). **Bulletin of Entomological Research** 65: 669–681.

CAMBARDELLA CA, MOORMAN TB, NOVAK JM, PARKIN TB, KARLEN DL, TURCO RF, KONOPKA A (1994) Field scale variability of soil properties in central Iowa soils. **Soil Science Society of America Journal** 58: 1501-1511.

CHERIAN MC & MARGABANDHU V (1942) A new species of Trichospilus (Hymenoptera: Chalcidoidea) from South India**. Indian Journal of Entomology** 4: 101–102.

CORBETT A & ROSENHEIM J A (1996) Quantifying movement of a minute parasitoid, *Anagrus epos* (Hymenoptera: Mymaridae), using fluorescent dust marking and recapture. **Biological Control** 6: 35-44.

DAJOZ R (1978) **Ecologia geral**. 3.ed. Petrópolis: Vozes, 472p.

FIRMINO-WINCKLER D C, WILCKEN CF, DIAS TKR, DAL POGETTO MHFA, FERREIRA-FILHO PJ & SOLIMAN EP (2008) Ocorrência de *Melanolophia consimilaria* (Lepidoptera: Geometridae) em plantios de *Eucalyptus spp*. No Centro-Sul Paulista. XXII Congresso Brasileiro de Entomologia, Center Convention, Uberlândia—MG, Brasil (Abstract).

FOURNIER F, BOIVIN G (2000) Comparative dispersal of *Trichogramma evanescens* and *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in relation to environmental conditions. **Environmental Entomology** 29: 55-63.

GRANCE ELV (1967) Potencial de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) para o controle de *Diatraeae saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 53p. 2010.

HENDRIKS, D.E. Effect of wind on dispersal of *Trichogramma semifumatum*. **Journal of Economic Entomology** 60: 1367-1373.

HOPPER KR & ROUSH RT (1993) Mate finding, dispersal, number released, and the sucess of biological control introductions. **Ecologycal Entomology** 18: 321-331.

KEHRLI P, LEHMANN M, BACHER S (2005) Mass-emergence devices: a biocontrol technique for conservation and augmentation of parasitoids. **Biological Control** 32: 191-199.

KING EG, BULL DL, BOUSE LR, PHILLIPS JR (1985) Introduction: Biological control of Heliothis spp. in cotton by augmentative releases of *Trichogramma***. Southwest Entomology** 8: 10.

KING EG, COLEMAN RJ, PHILLIPS JR, DICKERSON WA (1985) *Heliothis* spp. and selected natural enemy populations in cotton: a comparison of three insect control programs in Arkansas (1981-82) and North Carolina (1983). **Southwest Entomology** 8: 71-98.

KUSKE S, WIDMER F, EDWARDS PJ, TURLINGS TCJ, BABENDREIER D, BIGLER F (2003) Dispersal and persistence of mass released *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in non-target habitats. **Biological Control** 27: 181-193.

LIEBHOLD AM, ROSSI RE, KEMP WP (1993) Geostatistic and geographic information system in applied insect ecology. **Annual Review of Entomology** 38: 303-327.

NORRIS RJ, MEMMOTT J, LOVELL DJ (2002) The effect of rainfall on the survivorship and establishment of a biocontrol agent. **Journal of Applied Ecology** 39: 226-234.

PANDEY AK, TRIPATHI COM (2008) Effect of temperature on the development, fecundity, progeny sex ratio and life-table of *Campoletis chlorideae*, an endolarval parasitoid of the pod borer, *Helicoverpa armigera*. **BioControl** 53: 461-471.

PINTO AS, PARRA JRP (2002) Liberações de inimigos naturais. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole p.325-342.

SÁ LAN, PARRA JRP, SILVEIRA NETO S (1993) Capacidade de dispersão de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 para o controle de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) em milho. **Scientia Agricola** 50: 226-231.

SAAVEDRA JLD, TORRES JB & RUIZ MG (1997) Dispersal and parasitism of *Heliothis virescens* eggs by *Trichogramma pretiosum* (Riley) in cotton. **Journal Pest Management** 43: 169-171.

SAGARRA LA, VINCENT C, PETERS NF, STEWART RK (2000) Effect of host density, temperature, and photoperiod on the fitness of *Anagyrus kamali*, a parasitoid of the hibiscus mealybug *Maconellicoccus hirsutus*. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 96: 141-147.

SMITH SM (1996) Biological Control with *Trichogramma*: advances, successes, and potencial of their use. **Annual Review of Entomology** 41: 375-406.

SPATARO T, BERNSTEIN C (2007) Influence of environmental conditions on patch exploitation strategies of parasitoids. **Behavior Ecology** 18: 742-749.

SUVERKROPP BP, BIGLER F, VAN LENTEREN JC (2009) Dispersal behaviour of *Trichogramma brassicae* in maize fields. **Bulletin Insectology** 62: 113-120.

SUVERKROPP BP, DUTTON A, BIGLER F, VAN LENTEREN JC (2008) Oviposition behaviour and egg distribution of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*, on maize, and its effect on host finding by *Trichogramma* egg parasitoids. **Bulletin Insectology** 61: 303-312.

VIEIRA SR, HATFIELD JL, NIELSEN DR, BIGGAR JW (1983) Geostatistical theory and application to variability of some agronomical properties. **Hilgardia**, Oakland 51: 1-75.

WRIGHT MG, HOFFMANN MP, CHENUS SA, GARDNER J (2001) Dispersal behavior of *Trichogramma ostriniae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in sweet corn fields: implications for augmentative releases against *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Biological Control** 22: 29-37.

ZACHÉ B, WILCKEN CF, DACOSTA RR, SOLIMAN EP (2010) *Trichospilus diatraeae* Cherian Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), a new parasitoid of *Melanolophia consimilaria* (Lepidoptera: Geometridae). **Phytoparasitica** 38: 355-357.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados de experimentos demonstram que é possível otimizar a criação massal do parasitoide de pupas *T. diatraeae*. O melhor conhecimento de técnicas de criação e a possibilidade de armazenamento de hospedeiro e de insetos adultos possibilita que esses sejam liberados no momento em que a praga esteja no estágio adequado, possibilitando aumentar o potencial de parasitismo e seu crescimento populacional no campo. O experimento de dispersão foi um desafio devido a todas as dificuldades dos fatores abióticos envolvidas, que não podem ser controlados, e a ocorrência de infestação natural da praga em altos níveis populacionais, para que os resultados fossem representativos, uma vez que nunca foi avaliada a dispersão de um parasitoide de pupas em plantações de eucalipto. Novos estudos visando refinamento ainda maior das técnicas de criação massal, armazenamento e dispersão devem ser realizados para implementação de programas de controle biológico que alcancem realmente sucesso.

4. CONCLUSÕES FINAIS

- O parasitoide *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) responde positivamente ao aumento de sua densidade no parasitismo de pupas de *S. frugiperda*, até a densidade de 28:1 (parasitoide : hospedeiro).
- A alimentação dos adultos de *T. diatraeae* é necessária para aumentar a capacidade de parasitismo e sua longevidade, sendo o mel puro o melhor fonte alimentar.
- *T. diatraeae* responde positivamente aos maiores períodos de exposição de pupas de *S. frugiperda*, com maiores taxa de emergência, progênie total e número de parasitoides emergidos.
- As características biológicas do parasitoide *T. diatraeae* são afetadas negativamente quanto maior for o período de armazenamento do hospedeiro, independente da temperatura.
- As fêmeas adultas do parasitoide *T. diatraeae* pode ser armazenado por vários dias em baixas temperaturas sem perda de suas caraterísticas biológicas.
- *T. diatraeae* se dispersa de forma agregada em distâncias maiores que 30 m em plantios de eucalipto e o vento é o principal fator que afeta a direção da dispersão.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKMAN GÜNDÜZ E, GÜLEL A (2005) Investigation of fecundity and sex ratio in the parasitoid Bracon hebetor Say (Hymenoptera: Braconidae) in relation to parasitoid age. **Turkish Journal of Zoology** 29: 291-294.

ANDRADE GS, PRATISSOLI D, TORRES JB, BARROS R, DALVI LP & ZAGO HB (2009) Parasitismo de ovos de *Heliothis virescens* por *Trichogramma* spp. pode ser afetado por cultivares de algodão. **Acta Scientiarum Agronomy** 31: 569-573.

ASKEW RR, SHAW MR (1986) Parasitoid communities: Their size, structure and development. In: Waage, J.K; Greathead, D., (Ed.)**Insects Parasitoids**. London:Academic Press, 225-64.

BENNETT FD, GLENN H, YASEEN M & BARANOWSKI RM (1987) Records of *Trichospilus diatraeae*, an Asian parasite (Hymenoptera: Eulophidae) from the Caribbean and Florida. **Florida Entomologist** 70: 184-186.

BETBEDER-MATIBET M (1990) Élevage de plusieurs espéces du genre *Chilo* et de certains de leurs parasites pour la lutte biologique contre les foreurs des graminees em **Afrique. Insect Science Applied** 11: 617-623.

BITTENCOURT MAL, BERTI FILHO E (2004) Desenvolvimento dos estágios imaturos de *Palmistichus elaeisis* Delvare e LaSalle (Hymenoptera, Eulophidae) em pupas de Lepidoptera. **Revista Brasileira de Entomologia** 48: 65-68.

BOIVIN G (2010) Phenotypic plasticity and fitness in egg parasitoids. **Neotropical Entomology**, Londrina39: 457-463.

BORDAT D, BRENIERE J, COQUARD J (1977) Foreus de gramines africaines: parasitisme et techiniques d' elevage. **Agronomie Tropicale** 32: 391-399.

BOUCEK Z (1976) The African and Asiatic species of *Trichospilus* and *Cotterellia* (Hymenoptera, Eulophidae). **Bulletin of Entomological Research** 65: 669-681.

BOURNIER JP (1975) Sur la reproduction parthénogénétique de *Trichospilus diatraeae* Cher. et Margab. (Hymenoptera: Chalcidoidea). **Bulletin de la Societé Entomologique de France** 80: 116-118.

BRENIÈRE J, BORDAT D, VERCAMBRE B, HAMZA H, RENAND M (1985) Lês opérations de lutte biologique contre lê foreur du mais *Chilo partellus* dans Lile de Ngazidja. **Agronomie Tropicale** 40: 157-166.

CARDOSO D & MILWARD-DE-AZEVEDO EMV (1996) Aspectos da biologia de *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) e *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae), sob condições de laboratório. **Revista Brasileira de Entomologia** 40: 143−146.

CHERIAN MC & MARGABANDHU V (1942) A new species of *Trichospilus* (Hymenoptera: Chalcidoidea) from South India. **Indian Journal of Entomology** 4: 101-102.

CHOI WI, YOON T J, RYOO MI (2001) Host-sizedependent feeding behaviour and progeny sex ratio of *Anisopteromalus calandrae* (Hym.: Pteromalidae). **Journal of Applied Entomology** 125: 71-77.

CULLEN R, WARNER KD, JONSSON M & WRATTEN SD (2008) Economics and adoption of conservation biological control. **Biological Control** 45: 272-280.

DOGANLAR M, MENDEL Z (2007) First record of the eucalyptus gall wasp *Ophelimus maskelli* and its parasitoid, *Closterocerus chamaeleon*, in Turkey. **Phytoparasitica** 35: 333-335.

ÈTIENNE J & VIETTE P (1973) Nouvelle note sur *Polydesma umbricola* Boisduval (Lepidoptera: Noctuidae). **Bulletin de la Société Entomologique de France** 78: 98-107.

FINNEY GL, FISHER TW (1964) Culture of entomophagous insects and their host. In: DEBACH, P. & SCHLINGER (eds.), Biological control of insect pests and weeds. London: Chapman & Hall. 328-355.

FUCHSBERG JR, YONG TH, LOSEY JE, CARTER ME & HOFFMANN MP (2007) Evaluation of corn leaf aphid (*Rhopalosiphum maidis*; Homoptera: Aphididae) honeydew as a food source for the egg parasitoid *Trichogramma ostriniae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Biological Control** 40: 230-236.

HENTZ MG, ELLSWORRTH PC, NARANJO SE, WATSON TF (1998) Development, longevity and fecundity of *Chelonus* sp. nr. *curvimaculatus* (Hymenoptera: Braconidae), an egg-larval parasitoid of pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae). **Environmental Entomology** 27: 443-449.

JERVIS MA, ELLERS J, HARVEY JA (2008) Resource acquisition, allocation, and utilization in parasitoid reproductive strategies. **Annual Review of Entomology**, Stanford 53: 361-85.

JONSSON MSD, WRATTEN DA, LANDIS & GURR GM (2008) Recent advances in conservation biological control of arthropods by arthropods. **Biological Control** 45: 172-175.

KING BH (2002) Offspring sex ratio and number in response to proportion of host sizes and ages in the parasitoids wasp *Spalangia cameroni* (Hymenoptera: Pteromalidae). **Environmental Entomology** 31: 505-508.

MACKAUER M, SEQUEIRA R (1993) Patterns of development in insect parasites. In: BECKAGE NE, THOMPSON SN, FEDERICI BA (Ed.). **Parasites and pathogens of insects.** New York: Academic Press 1: 1–20.

MELO RL, PRATISSOLI D, POLANCZYK RA, TAVARES M, MILANEZ AM, MELO DF (2011) Ocorrência de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em broca-das-cucurbitáceas, no Brasil**. Horticultura Brasileira** 29: 228-230.

MILWARD-DE-AZEVEDO EMV, SERAFIN I, PIRANDA EM, GULIAS-GOMES CC (2004) Desempenho reprodutivo de *Nasonia vitripennis* Walker (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas crioconservadas de *Chrysomia megacephala* Fabricius (Diptera: Calliphoridae): Avaliação preliminar. **Ciência Rural** 34: 207-211.

NOYES JS (1998) **Catalogue of the Chalcidoidea of the World**. Amsterdam: ETI Eletronic Publication. (CD-ROM).

NOYES JS (2003) **Universal Chalcidoidea Database**. Disponível em: http://www.nhm.ac.uk/entomology/chalcidoids/index.html>. Acesso em: 22 set. 2008.

OLIVEIRA MAS, JUNQUEIRA NTV, ICUMA IM, ALVES RT, OLIVEIRA JNS, ANDRADE GA (2001) Incidência de danos da broca do fruto da graviola no Distrito Federal. Planaltina: **Embrapa-CPAC**, p.1-5.

PANDEY S, SINGH R (1999) Host size induced variation in progeny sex ratio of an aphid parasitoid *Lysiphebia mirzai*. **Entomologia Experimetalis et Applicata**, v.90, p.61-67, 1999.

PARON MJFO, CIOCIOLA AI, CRUZ I (1998) Resposta de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) a diferentes densidades de ovos do hospedeiro natural, *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil** 27: 427-433.

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

PARRA JRP (2007) **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. Piracicaba: FEALQ, p. 133.

PARRA JRP (2009) A evolução das dietas artificiais e suas interações em ciência e tecnologia. In: PANIZZI, A.R.; PARRA, J.R.P. **Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas.** Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 1164 p.

PARRA JRP (1997) Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*, p.121-150. In J.R.P. Parra & Zucchi RA (eds), Trichogramma e o controle biológico aplicado. Piracicaba, FEALQ, 324p.

PASTORI PL, MONTEIRO LB, BOTTON M, PRATISSOLI D (2007) Capacidade de parasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Bonagota salubricola* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) sob diferentes temperaturas. Neotropical Entomology 36: 926-931.

PASTORI PL, MONTEIRO LB, BOTTON M (2008) Capacidade de dispersão de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em pomar adulto de macieira. **Bolétin Sanidad Vegetal Plagas** 34: 239-245.

PENNACCHIO F, STRAND MR (2006) Evolution of developmental strategies in parasitic Hymenoptera. **Annual Review of Entomology**, Stanford 51: 233-258.

PEREIRA FF, ZANUNCIO JC, TAVARES MT, PASTORI PL, JACQUES GC (2008) Record of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) as parasitoid of the eucalypt defoliator *Thyrinteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) in Brazil. **Phytoparasitica** 36: 304-306.

PRICE PW (1975) Reproductive strategies of parasitoids. In: **Evolutionary Strategies of Parasitoids**, New York:Plenum, p. 87-111.

QUICKE, D.L.J. **Parasitic wasps**. London: Chapman & Hall, 1997. 470 p.

RODRIGUEZ-DEL-BOSQUE LA, SMITH JUNIOR JW (1989) Parasitization of *Diatraea lineolata* pupa and diapauzing larvae by several exotic parasites. **Florida Entomologist** 72: 703-705.

SAGARRA LA, PETERKIN DD, VICENT C, STEWART RK (2000) Immune response of the hibiscus mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* Green (Homoptera: Pseudococcidae), to oviposition of the parasitoid *Anagyrus kamali Moursi* (Hymenoptera: Encyrtidae). **Journal of Insect Physiology** 46: 647-653.

SCHRÖDER R, HILKER M (2008) The relevance of background odor in resource location by insects: a behavioral approach. **BioScience**, Washington 58: 308-316.

SILVA-TORRES CSA, MATTHEWS RW (2003) Development of *Melittobia australica* Girault and *M. digitata* Dahms (Parker) (Hymenoptera: Eulophidae) arasiting *Neobellieria bullata* (Parker) (Diptera: Sarcophagidae) puparia. **Neotropical Entomology** 32: 645-651.

SOARES MA, LEITE GLD, ZANUNCIO JC, ROCHA SL, SERRÃO JE (2007) Flight capacity, parasitism and emergence of five *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) species from forest areas in Brazil. **Phytoparasitica** 35: 314- 318.

STRAND MR (2008) The insect cellular immune response. **Insect Science** 15: 1-14.

TORRES-BAUZA JA (1994) Hymenopterous parasitoids of *Dismorfia spio* (Pieridae: Dismorphiinae). **Journal. Lepidoptera Society** 48: 266.

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

VAN DRIESCHE RGV, BELLOWS TS (1996) Biological Control. New York: **Chapman & Hall**, p. 539.

VINSON SB, IWANTSCH GF (1980) Host regulation by insect parasitoids. **The Quarterly Review of Biology**, New York, 55: 143-165.

ZACHÉ B, WILCKENCF, DACOSTA RR, SOLIMAN EP (2010a) *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), a new parasitoid of *Melanolophia consimilaria* (Lepidoptera: Geometridae). **Phytoparasitica** 38: 355-357.

ZACHÉ B, WILCKEN CF, ZACHÉ RRC, SOLIMAN EP, SAN ROMAN MLL (2010b) *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), un nuevo parasitoide de *Hypsipyla grandella* (Zeller, 1848) (Lepidoptera: Pyralidae). **Idesia** (Arica. Impresa) 28: 111-114.

ZACHÉ B, ZACHÉ RRC, SOLIMAN EP, WILCKEN CF (2011a) Evaluation of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) as parasitoid of the eucalyptus defoliator *Euselasia eucerus* (Lepidoptera:Riodinidae). **International Journal of Tropical Insect Science** 20: 1-5.

ZACHÉ B, ZACHÉ RRC, SOUZA NM, DIAS TKR, WILCKEN CF (2011b)New record of *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Sarsina violascens* (Herrich-Schaeffer, 1856) (Lepidoptera: Lymantriidae) in brazil. **Journal of plant protection research** 51: 420 – 422.

ZACHÉ B, ZACHÉ RRC, SOUZA NM, DALPOGETTO MHFA, WILCKEN CF (2012a) Evaluation of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) as parasitoid of the eucalyptus defoliator *Eupseudosoma aberrans* Schaus, 1905 (Lepidoptera: Arctiidae), **Biocontrol Science and Technology** 22: 363-366.

ZACHÉ B, WILCKEN CF, ZACHÉ RRC & SOUZA NM (2012b) New occurrence of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) as a parasitoid of *Spodoptera cosmioides* Walker, 1858 (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Biota Neotropical** 12: 1-4.