

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

ASPECTOS BIOLÓGICOS DE *Microcharops anticarsiae*
(HYMENOPTERA: ICHNEUMONIDAE) PARASITANDO
***Anticarsia gemmatalis* (LEPIDOPTERA: EREBIDAE)**

Oniel Jeremías Aguirre Gil

Engenheiro Agrônomo

2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

ASPECTOS BIOLÓGICOS DE *Microcharops anticarsiae*
(HYMENOPTERA: ICHNEUMONIDAE) PARASITANDO
***Anticarsia gemmatalis* (LEPIDOPTERA: EREBIDAE)**

Oniel Jeremías Aguirre Gil
Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Busoli

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Agronomia (Entomologia Agrícola).

2016

A284a Aguirre-Gil, Oniel Jeremías
Aspectos biológicos de *Microcharops anticarsiae* (Hymenoptera: Ichneumonidae) parasitando *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Erebidae) / Oniel Jeremías Aguirre Gil. – – Jaboticabal, 2016
v, 52 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016
Orientador: Antonio Carlos Busoli
Banca examinadora: Marcos Doniseti Michelotto, Julio Cesar Guerreiro, Raphael de Campos Castilho, Odair Aparecido Fernandes
Bibliografia

1. Parasitismo-comportamento. 2. Controle biológico. 3. Preferência de hospedeiro. 4. *Microcharops anticarsiae*. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 595.792

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: ASPECTOS BIOLÓGICOS DE *Microcharops anticarsiae* (HYMENOPTERA: ICHNEUMONIDAE) PARASITANDO *Anticarsia gemmatalis* (LEPIDOPTERA: EREBIDAE)

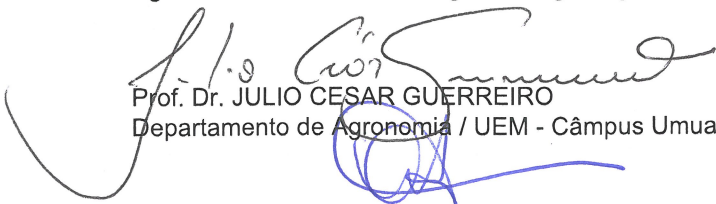
AUTOR: ONIEL JEREMIAS AGUIRRE GIL

ORIENTADOR: ANTONIO CARLOS BUSOLI

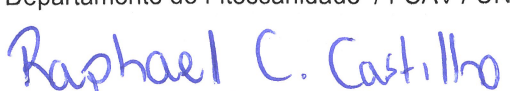
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA (ENTOMOLOGIA AGRÍCOLA), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. ANTONIO CARLOS BUSOLI
Departamento de Fitossanidade / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Professor Assistente Doutor MARCOS DONISETI MICHELOTTO
Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios / APTA - Pindorama/SP


Prof. Dr. JULIO CESAR GUERREIRO
Departamento de Agronomia / UEM - Câmpus Umuarama - Umuarama/PR

Prof. Dr. ODAIR APARECIDO FERNANDES
Departamento de Fitossanidade / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. RAPHAEL DE CAMPOS CASTILHO
Departamento de Fitossanidade / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 04 de novembro de 2016.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ONIEL JEREMÍAS AGUIRRE GIL - Nascido em 14 de abril de 1986 na cidade de Tingo Maria, Peru. Formou-se em Agronomia pela Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS), Tingo Maria, Peru. No ano de 2009, trabalhou na empresa “Agricola del Biavo S.A.” empresa produtora e comercializadora de arroz irrigado em Bellavista, San Martín, Peru. No ano de 2010, participou do projeto de pesquisa intitulada “Evaluación genética de plantas madres de camu camu *Myrciaria dubia* (H.B.K) Mc Vaugh en Loreto y Ucayali” no Instituto de Pesquisas da Amazônia Peruana (IIAP, acrônimos em Español), em Pucallpa, Ucayali, Peru. Em março de 2011, iniciou o Mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Entomologia Agrícola, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, SP, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. No Outono de 2012, realizou Curso de Inglês Intensivo no Spring International Language Center em Fayetteville, Arkansas, EUA. Durante o Mestrado, foi bolsista do Programa Internacional de Bolsas da Fundação Ford e desenvolveu a Dissertação na linha de pesquisa de Ecologia e Manejo Integrado de Pragas, sob a orientação do Prof. Dr. Antonio Carlos Busoli. Em março de 2013, iniciou o Doutorado pelo Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Entomologia Agrícola, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, SP, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. No verão de 2016, acompanhou projetos de pesquisa em Ecologia Química e Comportamento de Pragas Florestais no Great Lake Forestry Center em Sault Ste. Marie, Ontario, Canadá sob a supervisão do Dr. Jeremy D. Allyson. Durante o doutorado, foi bolsista do Programa Estudante Convênio de Pós-Graduação (PEC-PG) e desenvolveu a Tese na linha de pesquisa em Ecologia e Manejo Integrado de Pragas na cultura da soja, sob orientação do Prof. Dr. Antonio Carlos Busoli, cujos resultados estão descritos nesta Tese.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me permitir concluir mais uma etapa na minha vida e a minha família, pelo apoio incondicional.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, através do Departamento de Fitossanidade, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) e Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, pelo apoio concedido para a realização do Curso de Doutorado.

Ao Departamento de Fitossanidade por toda a infraestrutura fornecida e aos professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola), pelos ensinamentos nas várias disciplinas cursadas ao longo do Mestrado e Doutorado.

Ao Programa de Estudante Convênio de Pós-Graduação, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Prof. Dr. Antonio Carlos Busoli pela orientação, pelos conselhos, amizade e confiança em mim depositada desde o início do Curso de Mestrado.

Ao Dr. Jeremy D. Allyson e Dr. Marc C. Bouwer pelos ensinamentos durante minha estadia no Great Lake Forestry Center em Sault Ste. Marie, Ontario, Canadá.

Ao Canadian National Collection of Insects, Arachnids and Nematodes através do Dr. Jose Fernandez Triana e ao American Entomological Institute através do Dr. David Wahl pela identificação dos parasitoides enviados.

Aos funcionários e amigos do Departamento de Fitossanidade Lúcia Dias Tostes Fiorezzi, Celso de Deus Sant’ana de Oliveira e José Altamiro de Souza pela atenção e auxílio prestado.

Aos amigos do curso de Pós-Graduação e especialmente aos amigos do Laboratório de Controle Biológico e Manejo Integrado de Pragas, Diego Felisbino Fraga, Daniela de Lima Viana, Jacob Crosariol Netto, Leticia Serpa dos Santos, João Rafael De Conte Carvalho de Alencar, Fabricio Iglesias Valente, Lumey Perez Artiles, José Fernando Jurca Grigolli, Alex Antonio Ribeiro, Eduardo Nunes e Roseli Pessoa, pela amizade, respeito e companheirismo durante esses anos de convivência.

Aos valorosos colaboradores Viviane Cabrera Baptista de Aguiar, Ludmila Freitas Marques de Queiroz, Dario Pimenta Rocha Neto, Igor Henrique de Souza pelo auxílio na coleta dos dados deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	v
CAPÍTULO 1 – Considerações gerais.....	1
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. A cultura da soja e suas lagartas desfolhadoras.....	3
2.2. Controle biológico natural de pragas e <i>Microcharops anticarsiae</i> na cultura de soja	4
2.3. Interações tritróficas e cultivares de soja convencional e geneticamente modificadas	5
3. REFERÊNCIAS	8
CAPÍTULO 2 – Comportamento de parasitismo de <i>Microcharops anticarsiae</i> em lagartas de <i>Anticarsia gemmatilis</i> em campo.....	13
Resumo	13
Abstract.....	14
1. INTRODUÇÃO.....	15
2. MATERIAL E MÉTODOS	17
2.1. Experimento de campo	17
2.2. Experimento de laboratório	18
2.3. Organização das coletas.....	18
2.4. Análise dos dados.....	19
2.5. Identificação dos parasitoides.....	19
3. RESULTADOS	20
3.1. Identificação da espécie e parasitismo	20

Página

3.2. Desenvolvimento de lagartas de <i>Anticarsia gemmatalis</i> parasitadas por <i>Microcharops anticarsiae</i> em campo	21
3.3. Determinação do ínstar larval parasitado por <i>Microcharops anticarsiae</i> em campo.....	23
4. DISCUSSÃO.....	27
4.1. Identificação da espécie e parasitismo	27
4.2. Desenvolvimento de lagartas de <i>Anticarsia gemmatalis</i> parasitadas por <i>Microcharops anticarsiae</i> em campo	27
4.3. Determinação do ínstar larval parasitado por <i>Microcharops anticarsiae</i> em campo.....	29
5. REFERÊNCIAS	31
CAPÍTULO 3 – Aspectos biológicos de <i>Microcharops anticarsiae</i> parasitando lagartas de <i>Anticarsia gemmatalis</i> alimentadas com soja transgênica	33
Resumo	33
Abstract.....	34
1. INTRODUÇÃO.....	35
2. MATERIAL E MÉTODOS	36
2.1. Localização do experimento	36
2.2. Experimento 1: Efeito de três gerações sucessivas nos parâmetros biológicos de <i>Microcharops anticarsiae</i> parasitando <i>Anticarsia gemmatalis</i>	36
2.3. Experimento 2: Efeito da soja transgênica na longevidade de <i>Microcharops anticarsiae</i>	38
2.4. Análise dos dados.....	38
3. RESULTADOS	40

Página

3.1. Experimento 1: Efeito de três gerações sucessivas nos parâmetros biológicos de <i>Microcharops anticarsiae</i> parasitando <i>Anticarsia gemmatalis</i>	40
3.2. Experimento 2: Efeito da soja transgênica na longevidade de <i>Microcharops anticarsiae</i>	42
4. DISCUSSÃO	44
4.1. Experimento 1: Efeito de três gerações sucessivas nos parâmetros biológicos de <i>Microcharops anticarsiae</i> parasitando <i>Anticarsia gemmatalis</i>	44
4.2. Experimento 2: Efeito da soja transgênica na longevidade de <i>Microcharops anticarsiae</i>	46
5. REFERÊNCIAS	48
CAPÍTULO 4 – Implicações finais	51

ASPECTOS BIOLÓGICOS DE *Microcharops anticarsiae* (HYMENOPTERA: ICHNEUMONIDAE) PARASITANDO *Anticarsia gemmatalis* (LEPIDOPTERA: EREBIDAE)

RESUMO – *Microcharops anticarsiae* é um eficiente parasitoide da lagarta-da-soja *Anticarsia gemmatalis* que, também, parasita lagartas de outras espécies como *Chrysodeixis includens* e *Spodoptera eridania*. O objetivo do trabalho foi (1) determinar o ínstar larval de *A. gemmatalis* preferencialmente parasitado por *M. anticarsiae* a partir de lagartas coletadas em campo, (2) determinar o efeito de criações sucessivas de *M. anticarsiae* nos parâmetros biológicos do parasitoide e (3) determinar o efeito da soja transgênica sobre a longevidade de adultos do parasitoide. Os experimentos foram conduzidos nos anos agrícolas de 2014/15 e 2015/16 na FCAV/UNESP, Jaboticabal, SP, Brasil. Para a coleta das lagartas em campo, foram semeadas duas áreas de soja transgênica, uma tolerante ao herbicida glifosato e a outra resistente a insetos. Os resultados indicam que (1) *M. anticarsiae* preferiu parasitar lagartas de *A. gemmatalis* de primeiro e segundo ínstar em soja tolerante ao glifosato em campo, (2) não houve diferenças nos parâmetros biológicos de *M. anticarsiae* criado durante três gerações sucessivas em laboratório e (3) a longevidade total de *M. anticarsiae* e a longevidade de fêmeas foi mais longa em soja tolerante ao glifosato e a longevidade dos machos foi mais curta em ambas as sojas, tolerante ao glifosato e resistente a insetos. Finalmente, conclui-se que *M. anticarsiae* parasita lagartas de *A. gemmatalis* de primeiro e segundo ínstar em campo, que os parâmetros biológicos de *M. anticarsiae* não são afetados quando criados durante três gerações em laboratório e que a soja resistente a insetos afeta negativamente a longevidade dos machos de *M. anticarsiae*.

Palavras-chave: Comportamento de parasitismo, cenobionte, Cry1Ac, endoparasitoide, OGM, preferência de hospedeiro

BIOLOGICAL ASPECTS OF *Microcharops anticarsiae* (HYMENOPTERA: ICHNEUMONIDAE) PARASITIZING *Anticarsia gemmatalis* (LEPIDOPTERA: EREBIDAE)

ABSTRACT – *Microcharops anticarsiae* is an efficient parasitoid of *Anticarsia gemmatalis* and also parasitizes larvae of other species such as *Chrysodeixis includens* and *Spodoptera eridania*. This work aimed to (1) determine the larval instar of *A. gemmatalis* preferentially parasitized by *M. anticarsiae* from larvae collected in the field, (2) determine the effect of successive laboratory rearings of *M. anticarsiae* in the biological parameters of the parasitoid, and (3) determine the effect of transgenic soybean in the longevity of adults of the parasitoid. The experiments were carried out in the seasons 2014/2015 and 2015/2016 in the FCAV/UNESP, Jaboticabal, SP, Brasil. Two areas were sown with transgenic soybean, the first one tolerant to glyphosate and the second one resistant to insects. The results indicate that (1) *M. anticarsiae* preferred to parasitize *A. gemmatalis* larvae on the first and second larval instar in soybean tolerant to glyphosate in the field, (2) there were not differences in the biological parameters of *M. anticarsiae* reared during three successive laboratory rearings, and (3) the longevity total of *M. anticarsiae* and longevity of females was longer in soybean tolerant to glyphosate and the longevity of males was shorter in soybean tolerant to glyphosate and resistant to insects. Finally, we conclude that *M. anticarsiae* parasitize first and second instar larvae of *A. gemmatalis* in the field, the biological parameters of *M. anticarsiae* are not affected when reared during three generations in the laboratory, and the soybean resistant to insects affects negatively the longevity of males *M. anticarsiae*.

Key words: Parasitism behaviour, koinobiont, Cry1Ac, endoparasitoid, GMO, biological control, host preference

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1. INTRODUÇÃO

O parasitoide *Microcharops anticarsiae* Gupta, 1987 (Hymenoptera: Ichneumonidae) tem se mostrado um eficiente inimigo natural da lagarta-da-soja *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Erebidae), bem como também parasita outras espécies de lepidópteros da soja (PATEL; HABIB, 1998).

A lagarta-da-soja é uma das principais pragas da cultura da soja nas Américas e ocorre entre 40 °N nos Estados Unidos da América a 39 °S na Argentina (SOSA-GÓMEZ, 2004). Nos últimos anos, a cultura da soja tem passado por grandes mudanças como consequência da introdução das plantas transgênicas na agricultura, sendo que, os efeitos dessas plantas no comportamento e desenvolvimento dos parasitoides têm sido pouco estudados antes da comercialização.

Os inimigos naturais possuem a habilidade de detectar 'sinais' emitidos por suas presas/hospedeiros ou pelas plantas danificadas (de BOER; DICKE, 2004; van DEN BOOM et al., 2004; ZHU; PARK, 2005). No caso das plantas, quando danificadas por fitófagos, iniciam a produção e emissão de compostos metabólicos secundários que se distinguem em quantidade e constituição daqueles emitidos por plantas não danificadas (McCORMICK; UNSICKER; GERSHENZON, 2012).

Nas plantas transgênicas resistentes a insetos, por exemplo, essa produção e emissão de compostos secundários induzidos pela herbivoria diminui pelo fato das plantas não serem danificadas e, como consequência, a indução dos compostos secundários diminui (DEAN; de MORAES, 2006; LIU et al., 2015) alterando a interação praga-inimigo natural no campo.

No segundo capítulo são apresentadas as pesquisas relacionadas com determinação do instar larval de *A. gemmatalis* preferido pelo parasitoide *M. anticarsiae* em soja tolerante ao herbicida glifosato sobre condições de campo, durante o ano agrícola de 2014/15.

No terceiro capítulo são apresentadas as pesquisas relacionadas com a criação de *M. anticarsiae* em lagartas de primeiro instar de *A. gemmatalis* durante três

gerações e o efeito da soja transgênica (tolerante a herbicida e resistente a insetos) na longevidade de adultos de *M. anticarsiae* em condições de laboratório, durante o ano agrícola de safra 2014/15 e 2015/16.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. A cultura da soja e suas lagartas desfolhadoras

A soja *Glycine max* (L.) Merr., 1917 (Fabales: Fabaceae) leguminosa nativa da Ásia, foi introduzida no Brasil no século 20 e, desde então, seu cultivo vem se expandindo em todo território nacional. Sua maior utilização é destinada à alimentação humana e animal, extração de óleo vegetal, entre outras (MISSÃO, 2006).

A cultura da soja é uma das principais culturas do agronegócio Brasileiro; portanto, devido a sua importância socioeconômica, pesquisas vem sendo dirigidas no sentido de se alcançar maiores produtividades, associadas com a redução nos custos de produção (AMORIM et al., 2011).

No campo, a planta de soja é danificada por inúmeros insetos-praga que afetam direta e indiretamente a produtividade desta leguminosa (PANIZZI; BUENO; SILVA, 2012). Neste contexto, as lagartas desfolhadoras como a lagarta-da-soja e a lagarta falsa-medideira *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidade) são consideradas como os principais problemas da cultura (MOSCARDI et al., 2012).

A lagarta-da-soja ocorre em todas as regiões onde a soja é cultivada e a lagarta falsa-medideira tem se destacado como importante desfolhadora devido a alterações no manejo das lavouras (MOSCARDI et al., 2012), devido ao uso crescente de plantas geneticamente modificadas, que vem afetando a dinâmica populacional e o comportamento de insetos-praga e inimigos naturais nos agroecossistemas (LÖVEI; ANDOW; ARPAIA, 2009; IMURA et al., 2011).

Outras espécies desfolhadoras como a lagarta enroladeira *Omiodes indicata* (Fabricius, 1775) (Lepidoptera: Crambidae), e algumas espécies do gênero *Spodoptera* como a lagarta das vagens, *Spodoptera eridania* (Cramer, 1784) (Lepidoptera: Noctuidae), também danificam as plantas de soja e já foram consideradas pragas-chave por vários produtores de soja no Brasil (BUENO et al., 2008).

2.2. Controle biológico natural de pragas e *Microcharops anticarsiae* na cultura de soja

O controle biológico de pragas pode ser definido como a regulação populacional de insetos-praga por meio da ação de inimigos naturais, consistindo, assim, em uma importante ferramenta para a tomada de decisão em um programa de manejo integrado de pragas (MIP) (AGUIAR-MENEZES, 2003; BUSOLI et al., 2015).

Os inimigos naturais utilizados em programas de controle biológico correspondem a um grupo diverso de organismos, presentes em variadas classes, incluindo os predadores, parasitoides e microorganismos entomopatogênicos (PARRA et al., 2002; COSTA; BERTI FILHO; SATO, 2006).

Os parasitoides são insetos que têm pelo menos uma fase de seu desenvolvimento associada ao hospedeiro, do qual se alimenta, completando o seu ciclo de vida (PARRA et al., 2002). Um adulto de parasitoide pode parasitar muitos hospedeiros, mas suas larvas vivem e consomem, apenas um único indivíduo (GOATER; GOATER; ESCH, 2014). Esses parasitoides podem ser classificados como endoparasitoides ou ectoparasitoides e, ainda, como solitários ou gregários, dependendo do seu tipo de desenvolvimento (PARRA et al., 2002).

Os endoparasitoides se desenvolvem dentro do corpo do hospedeiro, enquanto os ectoparasitoides se desenvolvem no exterior dele e o termo gregário ou solitário se refere ao número de parasitoides que é desenvolvido por hospedeiro (PARRA et al., 2002).

Na cultura da soja, os parasitoides associados a lepidópteros e aos hemipteros são os mais estudados, devido a que são as pragas mais abundantes e, assim, mais importantes na lavoura. Esse grupo de agentes benéficos é muito importante no controle biológico natural, regulando as populações de pragas, e também no controle biológico aplicado, visto que existem boas perspectivas na sua utilização no MIP-Soja (BUENO et al., 2012).

Microcharops anticarsiae é classificado como um parasitoide cenobionte, isto é, o hospedeiro parasitado continua se alimentando e crescendo até que é destruído pelo imaturo do parasitoide em desenvolvimento (PATEL; HABIB, 1998).

Estudos desenvolvidos por Patel e Habib (1991, 1993, 1998) demonstraram que *M. anticarsiae* foi eficiente no parasitismo de lagartas de *A. gemmatalis* sem mostrar preferência pelo ínstar, porém produzindo mais fêmeas do que machos em lagartas de quarto ínstar, e demonstraram também que não houve diferenças significativas na duração do período larval de *M. anticarsiae* parasitando lagartas de primeiro até quarto ínstar de *A. gemmatalis* em condições de laboratório e alimentadas com soja convencional. Estes estudos foram o suporte para criações em laboratório de *M. anticarsiae* parasitando lagartas de *A. gemmatalis* alimentadas com soja convencional na época. Porém, poucos estudos posteriores têm sido desenvolvidos com esta espécie de parasitoide apesar do seu potencial como agente de controle biológico no agroecossistema da soja.

Nesse contexto, no presente trabalho foi estudado o endoparasitoide solitário *M. anticarsiae* devido a sua eficiência no controle biológico natural da lagarta-da-soja e de outras espécies de lepidópteros como *S. eridania* e *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) que nos últimos anos agrícolas têm sido consideradas importantes pragas nas cultivares de soja tolerante ao herbicida glifosato e resistente a insetos.

2.3. Interações tritróficas e cultivares de soja convencional e geneticamente modificadas

Na natureza, todos os organismos estão conectados através de cadeias alimentares e redes tróficas (HUNTER; PRICE, 1992; OHGUSHI, 2005). Esses organismos incluem plantas (primeiro nível trófico), herbívoros (segundo nível trófico) e predadores, parasitoides ou patógenos (a partir do terceiro nível trófico). O tipo de dinâmica envolvendo diferentes espécies funcionais é conhecida como interação tritrófica (PRICE et al., 2011).

Os parasitoides e predadores de insetos fitófagos evoluíram dentro de um contexto de interações multitróficas; portanto, sua fisiologia e comportamento são influenciados por elementos de outros níveis tróficos, como a sua presa/hospedeiro e as respectivas plantas (PRICE et al., 1980).

A localização bem sucedida do hospedeiro por fêmeas parasitoides é essencial para a reprodução, e normalmente é dependente da comunicação química entre parasitoides e hospedeiros, e entre parasitoides e plantas hospedeiras. A fim de localizar hospedeiros, as fêmeas parasitoides sistematicamente limitam sua busca localizando o habitat do hospedeiro e, em seguida, localizando o hospedeiro dentro do habitat (VINSON, 1991).

As fêmeas parasitoides geralmente localizam seus hospedeiros através da exploração de compostos químicos orgânicos voláteis liberados por plantas hospedeiras em altas concentrações e induzidos pela herbívoros (TURLINGS; TUMLINSON; LEWIS, 1990; VET; DICKE, 1992). Esses parasitoides podem usar odores para discriminar entre feces produzidas pela espécie hospedeira e não hospedeira (AGELOPOULOS; DICKE; POSTHUMUS, 1995; NGI-SONG; OVERHOLT, 1997; RÖSE et al., 1997), por hospedeiros de diferentes idades/ínstares (MATTIACCI; DICKE, 1995) e por hospedeiros se alimentando em diferentes plantas hospedeiras (INAYATULLAH, 1983; van LEERDAM; SMITH; FUCHS, 1985).

Por outro lado, as plantas geneticamente modificadas são plantas obtidas pela inserção de fragmentos manipulados de ADN a partir de um organismo diferente, a fim de melhorar algumas características da cultura original, tais como a sua resistência a pragas ou produtos fitossanitários, condições ambientais extremas, proporcionar melhores propriedades nutricionais, etc. (ROSELLINI; VERONESI, 2007). Porém, a manipulação genética de uma característica particular pode afectar as outras características como resultado da transgenia (SCHULER et al., 1999).

As plantas resistentes ao glifosato expressam uma variante bacteriana da enzima EPSPS (5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase), que é insensível ao glifosato (STRAPASSON; PINTO-ZEVALLOS; ZARBIN, 2016), enquanto que as resistentes a insetos contam com a expressão de proteínas Cry, que são sintetizadas a partir da inserção de um gene da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) (Berliner, 1915), que mata o inseto através de ligações específicas no seu intestino médio e consequente septicemia (JENKINS et al., 1999).

A maioria dos estudos realizados com plantas geneticamente modificadas (incluindo as culturas Bt) abordam os potenciais efeitos mediados pelo hospedeiro no desenvolvimento dos parasitoides (ou predador) (LÖVEI; ANDOW; ARPAIA, 2009).

Por exemplo, Wang et al. (2007) demonstraram que o polen do milho Bt com mel ao 10% mais água não afetou a longevidade, número de ovos parasitados, emergência da progênie e razão sexual de *Trichogramma ostrinae* Pang & Chen, 1974 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Porém, poucos estudos, incluindo o presente trabalho, abordam os potenciais efeitos das plantas geneticamente modificadas sobre o comportamento de oviposição e forrageamento de parasitoides (SCHULER et al., 1999, 2003).

No caso de predadores, (STRAPASSON; PINTO-ZEVALLOS; ZARBIN, 2016) estudaram o efeito da soja tolerante ao glifosato no comportamento de *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (Heteroptera: Pentatomidae) e a emissão de voláteis induzidos pela herbivoria da lagarta-da-soja, mas os resultados indicaram que não houve diferenças entre os voláteis da soja convencional e soja tolerante ao glifosato no comportamento do predador. No caso de parasitoides, (MURATA et al., 2006) estudaram a interação tritrófica soja-lagarta-parasitoide com resultados que indicam que *M. anticarsiae* responde positivamente aos voláteis emitidos pela planta de soja convencional (cultivar BR 37) danificada por lagartas de *A. gemmatalis* em experimentos desenvolvidos com olfatômetro.

3. REFERÊNCIAS

AGELOPOULOS, N. G.; DICKE, M.; POSTHUMUS, M. A. Role of volatile infochemicals emitted by feces of larvae in host-searching behavior of parasitoid *Cotesia rubecula* (Hymenoptera: Braconidae): A behavioral and chemical study. **Journal of Chemical Ecology**, v. 21, n. 11, p. 1789–1811, 1995.

AGUIAR-MENEZES, E. de L. **Controle biológico de pragas: princípios e estratégias de aplicação em ecossistemas agrícolas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2003, p. 8.

AMORIM, F. A.; HAMAWAKI, O. T.; De SOUSA, L. B.; LANA, R. M. Q.; HAMAWAKI, C. D. L. Época de semeadura no potencial produtivo de soja em Uberlândia-MG. **Semina: Ciencias Agrarias**, v. 32, n. 1, p. 1793–1802, 2011.

BUENO, A. D. F.; BUENO, R. C. O. D. F.; PARRA, J. R. P.; VIEIRA, S. S. Effects of pesticides used in soybean crops to the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum*. **Ciência Rural**, v. 38, n. 6, p. 1495–1503, 2008.

BUENO, A. F.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F.; BUENO, R. Inimigos naturais das pragas da soja. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (Eds.). **Soja - Manejo Integrado de Insetos e outros Artrópodes-Praga**. Brasília: Embrapa Soja, 2012. p. 493–629.

BUSOLI, A. C.; GUERREIRO, J. C.; VIANA, D. V.; PESSOAL, R.; FRAGA, D. F.; SANTOS, L. S. Tópicos em manejo integrado de pragas em sistemas agrícolas. In: BUSOLI, A. C.; CASTILHO, R. C.; ANDRADE, D. J.; ROSSI, G. D.; VIANA, D. L.; FRAGA, D. F.; SOUZA, L. A. **Tópicos em Entomologia Agrícola – VIII**. Jaboticabal (SP): Maria de Lourdes Brandel, 2015, p. 277-303.

COSTA, V. A.; BERTI FILHO, E.; SATO, M. E. Parasitoides e predadores no controle de pragas. In: PINTO, A. S.; NAVA, D. E.; ROSSI, M. M.; MALERBO-SOUZA, D. T. (Eds.). **Controle biológico de pragas na prática**. Piracicaba: CP2, 2006. p. 25–34.

DEAN, J. M.; de MORAES, C. M. Effects of genetic modification on herbivore-induced volatiles from maize. **Journal of Chemical Ecology**, v. 32, n. 4, p. 713–724, 2006.

de BOER, J. G.; DICKE, M. The role of methyl salicylate in prey searching behavior of the predatory mite *Phytoseiulus persimilis*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 30, n. 2, p. 255–271, 2004.

GOATER, T. M.; GOATER, C. P.; ESCH, G. W. **Parasitism: the diversity and ecology of animal parasites**. Second edition. Cambridge, United Kingdom; New York: Cambridge University Press, 2014, p. 6.

HUNTER, M. D.; PRICE, P. W. Playing chutes and ladders: heterogeneity and the relative roles of bottom-up and top-down forces in natural communities. **Ecology**, v. 73, n. 3, p. 724–732, 1992.

IMURA, O.; SHI, K.; IIMURA, K.; TAKAMIZO, T. Assessing the effects of cultivating genetically modified glyphosate-tolerant varieties of soybeans (*Glycine max* (L.) Merr.) on populations of field arthropods. **Environmental Biosafety Research**, v. 9, n. 2, p. 101–112, 2011.

INAYATULLAH, C. Host selection by *Apanteles flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae): influence of host and host plant. **Journal of Economic Entomology**, v. 76, n. 5, p. 1086–1087, 1983.

JENKINS, J. L.; LEE, M. K.; SANGADALA, S.; ADANG, M. J.; DEAN, D. H. Binding of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin to *Manduca sexta* aminopeptidase-N receptor is not directly related to toxicity. **FEBS Letters**, v. 462, n. 3, p. 373–376, 3 dez. 1999.

LIU, Q.; ROMEIS, J.; YU, H.; ZHANG, Y.; LI, Y.; PENG, Y. Bt rice does not disrupt the host-searching behavior of the parasitoid *Cotesia chilonis*. **Scientific Reports**, v. 5, p. 15295, 2015.

LÖVEI, G. L.; ANDOW, D. A.; ARPAIA, S. Transgenic insecticidal crops and natural enemies: a detailed review of laboratory studies. **Environmental Entomology**, v. 38, n. 2, p. 293–306, 2009.

MATTIACCI, L.; DICKE, M. The parasitoid *Cotesia glomerata* (Hymenoptera: Braconidae) discriminates between first and fifth larval instars of its host *Pieris brassicae*, on the basis of contact cues from frass, silk, and herbivore-damaged leaf tissue. **Journal of Insect Behavior**, v. 8, n. 4, p. 485–498, 1995.

McCORMICK, A. C.; UNSICKER, S. B.; GERSHENZON, J. The specificity of herbivore-induced plant volatiles in attracting natural enemies. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 17, n. 5, p. 303-310, 2012.

MISSÃO, M. R. Soja: Origem, classificação, utilização e uma visão abrangente do mercado. **Revista de Ciências Empresariais**, v. 3, n. 1, p. 7–15, 2006.

MOSCARDI, F.; BUENO, A. D. F.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; ROGGIA, S.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; POMARI, A. F.; YANO, S. A. C. Artrópodes que atacam as folhas da soja. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (Eds.). **Soja: Manejo Integrado de Insetos e outros Artrópodes-Praga**. Brasília: Embrapa Soja, 2012. p. 860.

MURATA, A. T.; De BORTOLI, S. A.; OLIVEIRA, J. E. D. M.; LOPES, L. M. X. Respostas de inimigos naturais à extratos de dois genótipos de soja com e sem dano por lagarta-da-soja e alguns isoflavonóides, em testes de olfatometria. In: Reunião Anual do Instituto Biológico, 19., 2006, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Instituto Biológico, 2006. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/docs/bio/suplementos/v68_supl/p523-525.pdf>. Acessado em: 23 jul. 2016.>

NGI-SONG, A. J.; OVERHOLT, W. A. Host location and acceptance by *Cotesia flavipes* Cameron and *C. sesamiae* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae), parasitoids of African Gramineous Stemborers: Role of frass and other host cues. **Biological Control**, v. 9, n. 2, p. 136–142, 1997.

OHGUSHI, T. Indirect interaction webs: herbivore-induced effects through trait change in plants. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, p. 81–105, 2005.

PANIZZI, A. R.; BUENO, A. F.; SILVA, F. A. C. Insetos que atacam vagens e grãos. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (Eds.). **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Brasília: Embrapa Soja, 2012. p. 335–420.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, S.; BENTO, J. M. S. Controle Biológico: Terminologia. In: _____ (Eds.). **Controle Biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 1–16.

PATEL, P. N. Flutuação populacional de insetos fitófagos e agentes de controle natural de *Anticarsia gemmatilis* Hueb., 1818 e *Pseudoplusia includens* (Walk.,

1857) em soja consorciada e não consorciada e bioecologia de seu endoparasito, *Microcharops anticarsiae* Gupta, 1987 (Hymenoptera: Ichneumonidae) em laboratório. 1991. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 1991.

PATEL, P. N.; HABIB, M. E. M. *Microcharops anticarsiae* (Hym.: Ichneumonidae) parasitoid of *Anticarsia gemmatilis* (Lep.: Noctuidae): Host age preference, sex ratio effects and functional response. **Entomophaga**, v. 38, n. 4, p. 511–517, 1993.

PATEL, P. N.; HABIB, M. E. M. Development of *Microcharops anticarsiae* Gupta (Hym., Ichneumonidae), an endoparasitoid of the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatilis* (Lep., Noctuidae) and morphology of its immature stages. **Journal of Applied Entomology**, v. 122, n. 7, p. 369–373, 1998.

PRICE, P. W.; BOUTON, C. E.; GROSS, P.; McPHERON, B. A.; THOMPSON, J. N.; WEIS, A. E. Interactions among three trophic levels: Influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 11, p. 41–65, 1980.

PRICE, P. W.; DENNO, R. F.; EUBANKS, M. D.; FINKE, D. L.; KAPLAN, I. **Insect ecology: behavior, populations and communities**. New York: Cambridge University Press, 2011.

RÖSE, U. S. R.; ALBORN, H. T.; MAKRANCZY, G.; LEWIS, W. J.; TUMLINSON, J. H. Host recognition by the specialist endoparasitoid *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae): Role of host-and plant-related volatiles. **Journal of Insect Behavior**, v. 10, n. 3, p. 313–330, 1997.

ROSELLINI, D.; VERONESI, F. Safe genetically engineered plants. **Journal of Physics: Condensed Matter**, v. 19, n. 39, 7 p., 2007.

SCHULER, T. H.; POTTING, R. P. J.; DENHOLM, I.; CLARK, S. J.; CLARK, A. J.; STEWART, C. N.; POPPY, G. M. Tritrophic choice experiments with Bt plants, the diamondback moth (*Plutella xylostella*) and the parasitoid *Cotesia plutellae*. **Transgenic Research**, v. 12, n. 3, p. 351–361, 2003.

SCHULER, T. H.; POTTING, R. P. J.; DENHOLM, I.; POPPY, G. M. Parasitoid behaviour and Bt plants. **Nature**, v. 400, n. 6747, p. 825–829, 1999.

SOSA-GÓMEZ, D. R. Intraspecific variation and population structure of the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818 (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 27, n. 3, p. 378–384, 2004.

STRAPASSON, P.; PINTO-ZEVALLOS, D. M.; ZARBIN, P. H. G. Soybean (*Glycine max*) plants genetically modified to express resistance to glyphosate: can they modify airborne signals in tritrophic interactions? **Chemoecology**, v. 26, n. 1, p. 7–14, 2016.

TURLINGS, T. C. J.; TUMLINSON, J. H.; LEWIS, W. J. Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps. **Science**, v. 250, p. 1251–1253, 1990.

van DEN BOOM, C. E. M.; van BEEK, T. A.; POSTHUMUS, M. A.; DE GROOT, A.; DICKE, M. Qualitative and quantitative variation among volatile profiles induced by *Tetranychus urticae* feeding on plants from various families. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 30, n. 1, p. 69–89, 2004.

van LEERDAM, M. B.; SMITH, J. W.; FUCHS, T. W. Frass-mediated, host-finding behavior of *Cotesia flavipes*, a braconid parasite of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 78, n. 5, p. 647–650, 1985.

VET, L. E. M.; DICKE, M. Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. **Annual Review of Entomology**, v. 37, n. 1, p. 141–172, 1992.

VINSON, S. B. Chemical signals used by parasitoids. **Redia**, v. 74, p. 15–42, 1991.

WANG, Z.; WU, Y.; HE, K.; BAI, S. Effects of transgenic Bt maize pollen on longevity and fecundity of *Trichogramma ostrinae* in laboratory conditions. **Bulletin of Insectology**, v. 60, n. 1, p. 49, 2007.

ZHU, J.; PARK, K. C. Methyl salicylate, a soybean aphid-induced plant volatile attractive to the predator *Coccinella septempunctata*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 31, n. 8, p. 1733–1746, 2005.

CAPÍTULO 2 – Comportamento de parasitismo de *Microcharops anticarsiae* em lagartas de *Anticarsia gemmatalis* em campo

RESUMO - Os parasitoides são os mais diversos organismos responsáveis pelo controle biológico natural, mas se desconhece muitos fatores em relação ao seu comportamento em campo e os efeitos no desenvolvimento de seu hospedeiro. O objetivo do trabalho foi (1) determinar o ínstar larval de *Anticarsia gemmatalis* parasitado por *Microcharops anticarsiae* a partir de lagartas coletadas em campo e (2) determinar a o efeito do parasitismo na duração de cada ínstar larval de *A. gemmatalis* parasitado por *M. anticarsiae*. As lagartas foram coletadas a partir dos 45 até 66 dias após a emergência da soja, ano agrícola de 2014/15. A duração do primeiro, segundo, terceiro e quarto ínstar de *A. gemmatalis* não foi afetada pelo parasitismo. No entanto, a duração do quinto ínstar, período de pré-pupa e larval foi reduzida. A formação da pré-pupa foi prematura e realizada no final do quarto ínstar em lagartas parasitadas e o peso da pré-pupa foi 77% menor quando comparadas com o controle (lagartas não parasitadas). Os resultados também demonstraram que *M. anticarsiae* parasita lagartas de primeiro e segundo ínstar em campo e que o parasitismo afeta a duração do quinto, período de pré-pupa e larval de *A. gemmatalis*.

Palavras-chave: Ichneumonidae, ínstar parasitado, Erebidæ, OGM, preferência de hospedeiro

CHAPTER 2 – Parasitism behaviour of *Microcharops anticarsiae* in *Anticarsiae gemmatalis* in field

ABSTRACT - Parasitoids are the most diverse group of organisms responsible for natural biological control, but there are many factors about parasitoid behaviour and host–parasitoid interactions that remain unknown. Therefore, the objective of this study was to (1) determine which larval instar of *Anticarsia gemmatalis* is parasitised by *Microcharops anticarsiae* in the field and (2) determine the effect of parasitism in the length of each larval instar of *A. gemmatalis* parasitised by *M. anticarsiae*. The larvae were collected from 45 to 66 days after emergence of soybean plants, during the 2014/15 season. The length of first, second, third and fourth instar of *A. gemmatalis* was not affected by parasitism, but the length of fifth instar, prepupal period and larval period were reduced. The prepupa formation of *A. gemmatalis* started prematurely, at the final of fourth larval instar, in parasitised larvae. The parasitised prepupa weight was 77% lower than unparasitised prepupa. The results also demonstrated that *M. anticarsiae* parasitises first and second larval instar of *A. gemmatalis* in the field, and that the parasitism affects the length of the fifth instar, prepupal period and larval period of *A. gemmatalis*.

Key words: Ichneumonidae, parasitised instar, Erebidæ, OGM, host preference

1. INTRODUÇÃO

Os parasitoides são os mais importantes organismos responsáveis pelo controle biológico natural, posto que são os exemplos mais documentadas no mundo (BERNAL et al., 2004). Além disso, de 1193 espécies de predadores e parasitoides incluídos em uma revisão mundial de programas de controle biológico, 75% foram parasitoides indicando uma maior diversidade de espécies (GORDH, LEGNER; CALTAGIRONE, 1999). Os parasitoides são especialmente comuns na Ordem Hymenoptera, para os quais as estimativas recentes sugerem que 10% a 20% de todos os insetos podem ser vespas parasitoides (PENNACCHIO; STRAND, 2006).

Estudos com a vespa parasitoide *Microcharops anticarsiae* (Hymenoptera: Ichneumonidae) tem demonstrado que é um eficiente inimigo natural de *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Erebidae), bem como também parasita outras espécies de lepidópteros (PATEL; HABIB, 1998). *Microcharops anticarsiae*, além de ser um endoparasitoide larval solitário, é um parasitoide cenobionte, isto é, o hospedeiro parasitado continua se alimentando e crescendo até que é destruído pelo imaturo do parasitoide em desenvolvimento).

Estudos de Patel e Habib (1998) sobre o desenvolvimento larval de *M. anticarsiae* parasitando lagartas de *A. gemmatilis* em condições de laboratório e alimentadas com soja convencional mostraram que este parasitoide passa por quatro ínstares larvais enquanto que outros estudos demonstraram que *M. anticarsiae* parasita lagartas do primeiro ao quarto ínstar de *A. gemmatilis* sem mostrar preferência no momento do parasitismo (PATEL; HABIB, 1993).

Alguns estudos demonstraram que o parasitismo pode reduzir a duração do período larval do hospedeiro, mas não determinaram qual o ínstar ou ínstares reduzidos nas lagartas parasitadas. Além disso, não se tem realizado pesquisas acerca do desenvolvimento e comportamento de lagartas de *A. gemmatilis* parasitadas por *M. anticarsiae* quando alimentadas com soja transgênica tolerante ao glifosato, nem se tem pesquisado acerca do comportamento de parasitismo de *M. anticarsiae* sob condições de campo.

Nesse sentido, as hipóteses do presente estudo foram (1) o parasitismo por *M. anticarsiae* reduz a duração dos ínstares larvais de *A. gemmatilis* coletadas em campo e criadas sob condições de laboratório, e; (2) as fêmeas de *M. anticarsiae* parasitam lagartas de segundo ínstar em campo. Portanto, o objetivo do trabalho foi determinar a preferência de parasitismo natural de *M. anticarsiae* por ínstares larvais de *A. gemmatilis* em campo, e em laboratório, determinar o efeito do parasitismo na duração de cada ínstar larval e no tempo de desenvolvimento larval, a partir de lagartas coletadas em campo e alimentadas com soja transgênica tolerante ao glifosato.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Experimento de campo

Os estudos de campo e de laboratório foram realizados na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão (21°15'04" S; 48°17'04" W) e no Laboratório de Controle Biológico e Manejo Integrado de Pragas na FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal (21°14'28" S; 48°17'23" W), Brasil, durante o ano agrícola de 2014/15.

As coletas de lagartas em campo foram realizadas durante os meses de janeiro e fevereiro de 2015. A temperatura média, na Estação Agrometeorológica (21°14'05" S, 48°17'09" W, 615 m), durante a época de coleta foi de 25,26 °C, temperatura mínima de 20,25 °C e máxima de 31,91 °C. Os elementos meteorológicos utilizados neste trabalho, foram extraídos de um conjunto de dados pertencentes ao acervo da área de Agrometeorologia do Departamento de Ciências Exatas na Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Câmpus de Jaboticabal. Os dados meteorológicos são registrados em formato padronizado uma vez realizada a consistência e controle de qualidade. Em seguida são obtidas as medias diárias, mensais e anuais que são repassadas aos usuários.

Esta fase do experimento foi desenvolvida em uma área de 0,8 ha da cultivar de soja SYN 1365 RR® (tolerante ao herbicida glifosato), ano agrícola de 2014/15. Durante o experimento, não houve pulverização com inseticidas. Para as doenças foliares foi aplicado fungicida duas vezes a base de triazoles no final da fase vegetativa e no inicio da fase reprodutiva. As lagartas de *A. gemmatalis* foram coletadas utilizando o método do pano de batida. Semanalmente, foram realizadas vinte amostras ao acaso. As amostragens foram realizadas desde 45 a 66 dias após a emergência das plantas e as lagartas coletadas foram acondicionadas em recipientes de plástico para serem transportados para o laboratório.

2.2. Experimento de laboratório

As lagartas coletadas continuaram seu desenvolvimento sob condições controladas de temperatura (25 ± 2 °C), umidade relativa ($60 \pm 10\%$) e fotofase de 14 h. Nestas condições, cada lagarta foi individualizada em uma placa de Petri contendo um folíolo da cultivar de soja SYN 1365 RR[®] para alimentação, trocado diariamente. Previamente, as folhas de soja foram higienizadas com uma solução de hipoclorito de sódio (5%) durante 10 minutos. Após os 10 minutos, as folhas foram colocadas em água e enxaguadas três vezes. As placas de Petri foram seladas com filme plástico para evitar a desidratação dos folíolos.

2.3. Organização das coletas

As lagartas foram organizadas em grupos de acordo com o ínstar em que foram coletadas em campo. Esses grupos de coleta foram G1, G2, G3, G4 e G5 para lagartas de primeiro, segundo, terceiro, quarto e quinto ínstar, respectivamente. Os grupos de coleta de lagartas parasitadas foram formados na medida que os imaturos dos parasitoides emergiram do hospedeiro. Esses grupos foram G1p, G2p, G3p, G4p e G5p para lagartas parasitadas no primeiro, segundo, terceiro, quarto e quinto ínstar, respectivamente.

As lagartas parasitadas foram identificadas somente quando a formação prematura da pré-pupa e a consequente emergência e formação do casulo do parasitoide, posto que, não foi possível determinar em condições de campo, se a lagarta coletada estava parasitada.

Os parâmetros avaliados foram a duração de cada ínstar larval, período de pré-pupa e período larval de *A. gemmatilis*, determinados após a coleta das lagartas no campo. Os ínstares larvais foram determinados, verificando as cápsulas cefálicas em cada placa de Petri como sugerido por Mironidis e Savopoulou-Soultani (2009). Diariamente, foi registrado o ínstar de *A. gemmatilis* para cada lagarta em cada placa de Petri.

Para se determinar o ínstar larval de *A. gemmatalis* preferido pelo parasitoide *M. anticarsiae* em campo, foi elaborado um modelo representado numa figura a partir da duração dos ínstaes em lagartas parasitadas (G1p até G5p). A duração do período de ovo-larva de *M. anticarsiae* parasitando lagartas de *A. gemmatalis* foi determinada no tratamento G1p. Este parâmetro foi utilizado para determinar o ínstar larval de *A. gemmatalis* parasitado por *M. anticarsiae* em campo.

2.4. Análise dos dados

As análises estatísticas foram executadas utilizando o programa estatístico R-3.3.2 para Windows (R CORE TEAM, 2016). A normalidade e homogeneidade de variâncias foram testadas pelo teste de Shapiro-Wilk e Levene ($\alpha \leq 0,05$), respectivamente. Quando necessários os dados foram transformados em y^{λ} usando a transformação de Box-Cox. Os dados dos parâmetros avaliados foram analisados mediante a ANOVA com o grupo de coleta de lagartas como fator entre sujeito. A ANOVA foi complementada pelo teste de Tukey para determinar as diferenças entre os grupos de coleta. As diferenças foram consideradas significativas para $\alpha \leq 0,05$.

2.5. Identificação dos parasitoides

No ano agrícola de 2014/15, 19 adultos dos parasitoides mais frequentes emergidos das lagartas coletadas em campo foram selecionados de acordo com as diferenças na coloração do corpo, sendo que diferenças morfológicas não foram encontradas. Esses parasitoides foram montados em alfinete entomológico e enviadas para identificação específica no American Entomological Institute a nome do curator David Wahl em Gainesville, FL, EUA.

3. RESULTADOS

3.1. Identificação da espécie e parasitismo

Todos os exemplares foram identificados no American Entomological Institute como *Microcharops anticarsiae* Gupta, 1987 (Hymenoptera: Ichneumonidae). A porcentagem de parasitismo natural em lagartas-da-soja foi 77,54, 70,84, 78,60, 69 e 49,73% para lagartas coletadas no primeiro (G1p), segundo (G2p), terceiro (G3p), quarto (G4p) e quinto (G5p) ínstar, respectivamente (Figura 1). A porcentagem de parasitismo de *M. anticarsiae* foi 12,20, 17,01, 24,02, 31,98 e 12% em lagartas coletadas no primeiro (G1p), segundo (G2p), terceiro (G3p), quarto (G4p) e quinto (G5p) ínstar, respectivamente.

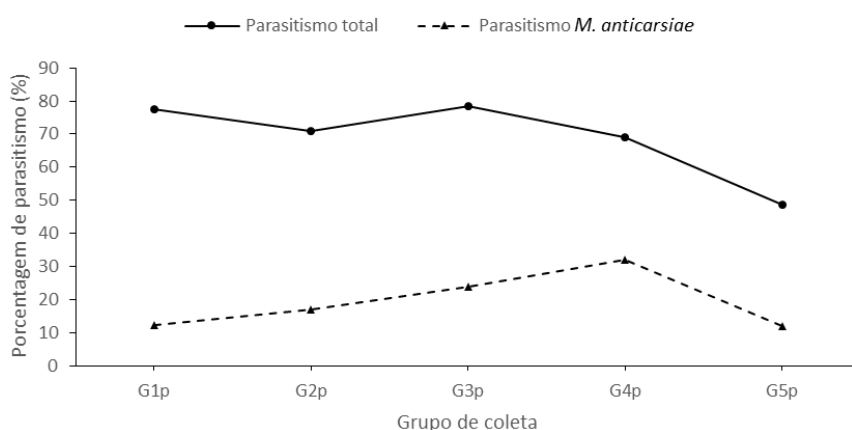


Figura 1. Porcentagem de parasitismo de *Microcharops anticarsiae* em lagartas de *Anticarsia gemmatilis* coletadas no primeiro (G1p), segundo (G2p), terceiro (G3p), quarto (G4p) e quinto (G5p) ínstar em campo de soja tolerante ao glifosato.

Durante o trabalho foi observado a emergência de adultos de outras espécies de parasitoides tais como *Glyptapanteles* sp. 1, *Glyptapanteles* sp. 2, *Glyptapanteles* sp. 3, *Glyptapanteles* sp. 4 que foram identificados por Jose Fernandez Triana do Canadian National Collection of Insects, Arachnids and Nematodes, Ottawa, ON, Canadá; porém, *M. anticarsiae* foi a espécie de parasitoide que predominou na lagarta-da-soja em campo.

3.2. Desenvolvimento de lagartas de *Anticarsia gemmatalis* parasitadas por *Microcharops anticarsiae* em campo

Foi verificado que não houve diferenças significativas na duração do primeiro, segundo, terceiro e quarto ínstar em lagartas de *A. gemmatalis* parasitadas e não parasitadas, de acordo com o teste de Tukey ($P \leq 0,05$), no ano agrícola de 2014/15 (Tabela 1).

Tabela 1. Médias ($\pm$ EP) de duração do primeiro, segundo, terceiro e quarto ínstar de *Anticarsia gemmatalis* parasitadas e não parasitadas após a coleta de lagartas em campo de soja, ano agrícola de 2014/15¹.

Tratamentos	N	1º-ínstar	N	2º-ínstar	N	3º-ínstar	N	4º-ínstar	
G1	17	2,29 $\pm$ 0,32	a	17	2,47 $\pm$ 0,26	a	17	2,53 $\pm$ 0,19	a
G1p	14	2,21 $\pm$ 0,33	a	14	2,29 $\pm$ 0,16	a	14	2,21 $\pm$ 0,21	a
G2		- ²	20	2,10 $\pm$ 0,28	a	20	2,20 $\pm$ 0,16	a	20
G2p		-	17	2,24 $\pm$ 0,25	a	17	2,18 $\pm$ 0,15	a	17
G3		-		-	17	1,94 $\pm$ 0,18	a	17	2,88 $\pm$ 0,19
G3p		-		-	28	2,21 $\pm$ 0,20	a	26	2,50 $\pm$ 0,20
G4		-		-		-	36	2,03 $\pm$ 0,17	b
G4p		-		-		-	34	2,47 $\pm$ 0,19	ab
F		0,030		1,129		1,05		2,992	
df		1, 29		3, 64		5, 107		7, 173	
P		0,865		0,344		0,393		0,005	

¹ Médias seguidas pela mesma letra em coluna indica diferenças não significativas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

² Sem dados.

G1, G2, G3 e G4 são grupos formados por lagartas de *A. gemmatalis* não parasitadas e coletadas em campo no primeiro, segundo, terceiro e quarto ínstar, respectivamente. G1p, G2p, G3p e G4p são grupos formados por lagartas de *A. gemmatalis* parasitadas e coletadas em campo no primeiro, segundo, terceiro e quarto ínstar, respectivamente.

A maioria dos imaturos (71,29%) de *M. anticarsiae* atingiram seu tempo de desenvolvimento larval e iniciaram o processo de pupação, quando as lagartas de *A. gemmatalis* atingiram a pré-pupa no final do quarto ínstar. As observações do

comportamento nessa fase de parasitismo mostraram que a larva de *M. anticarsiae* consome todo o interior da lagarta de *A. gemmatalis* e deixa o tegumento e a cápsula cefálica, e empupa lateralmente a estes restos larvais.

Os dados da Tabela 2 indicam também que a quantidade de lagartas de *A. gemmatalis* que atingiram o quinto ínstar foi menor em lagartas parasitadas do que em lagartas não parasitadas. Além disso, esses dados indicam que houve diferenças nas comparações emparelhadas G1 vs. G1p, G3 vs. G3p e G4 vs. G4p, onde o quinto ínstar foi maior em lagartas de *A. gemmatalis* não parasitados do que em lagartas parasitadas.

Os grupos de lagartas não parasitadas (G1, G2, G3 e G4) desenvolveram até atingirem um sexto ínstar larval, o qual não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 2). Porém, houve uma baixa porcentagem de lagartas não parasitadas que atingiram o sexto ínstar; variando entre 5,71% ($N = 2$) e 17,65% ($N = 3$) para os grupos G4 e G1, respectivamente.

A duração do período de pré-pupa foi significativamente mais longa em lagartas não parasitadas do que em parasitadas, exceto em G5 vs. G5p (Tabela 2). Em relação a este fato, é importante mencionar que o peso médio das pré-pupas parasitadas ($X=0,0423\pm0,0019$ g, $N=21$), foi 77,26% menor que em pré-pupas não parasitadas ($X=0,1886\pm0,0073$ g, $N=21$).

A duração do período larval de *A. gemmaralis* foi mais curta em lagartas parasitadas do que em não parasitadas, exceto em lagartas coletadas no quinto ínstar (G5 vs. G5p).

No geral, os resultados demonstram que a duração do período larval de *A. gemmatalis* parasitado por *M. anticarsiae* foi mais curta devido ao baixo número de lagartas que atingiram o quinto ínstar e à redução na duração do período de pré-pupa somado à ausência de sexto ínstar quando as lagartas foram alimentadas com soja tolerante ao glifosato.

Tabela 2. Médias ($\pm$ EP) de duração do quinto ínstar, sexto ínstar, período de pré-pupa e larval de *Anticarsia gemmatalis* parasitadas e não parasitadas após a coleta de lagartas em campo de soja, ano agrícola de 2014/15¹.

Tratamentos	N	5 ^o -ínstar	N	6 ^o -ínstar	N	Pré-pupa	N	Período larval
G1	17	3,82 $\pm$ 0,21 a	3	3,33 $\pm$ 0,33 a	17	1,94 $\pm$ 0,14 a	17	16,12 $\pm$ 0,55 a
G1p	3	1,33 $\pm$ 0,33 b		-	14	1,25 $\pm$ 0,13 b	14	11,07 $\pm$ 0,46 c
G2	20	4,30 $\pm$ 0,41 a	3	4,00 $\pm$ 1,00 a	20	2,00 $\pm$ 0,10 a	20	13,80 $\pm$ 0,48 b
G2p	6	2,50 $\pm$ 0,43 ab		-	13	1,31 $\pm$ 0,13 b	17	9,29 $\pm$ 0,45 cd
G3	17	3,71 $\pm$ 0,32 a	2	2,50 $\pm$ 0,50 a	17	1,88 $\pm$ 0,12 a	17	10,71 $\pm$ 0,27 c
G3p	6	2,17 $\pm$ 0,60 b		-	19	1,32 $\pm$ 0,11 b	18	5,89 $\pm$ 0,37 e
G4	35	4,09 $\pm$ 0,23 a	2	2,00 $\pm$ 1,00 a	35	1,89 $\pm$ 0,09 a	36	7,94 $\pm$ 0,36 d
G4p	6	2,00 $\pm$ 0,52 b		-	25	1,44 $\pm$ 0,10 ab	34	3,88 $\pm$ 0,23 f
G5	39	2,44 $\pm$ 0,19 b		-	39	1,89 $\pm$ 0,08 a	39	4,33 $\pm$ 0,19 f
G5p	3	2,00 $\pm$ 0,58 b		-	3	2,33 $\pm$ 0,33 a	3	4,33 $\pm$ 0,88 f
<i>F</i>		7,973		1,475		7,297		110,200
<i>df</i>		9, 142		3, 6		9, 190		9, 215
<i>P</i>		0,000		0,313		0,000		0,000

¹ Médias seguidas pela mesma letra em coluna indica diferenças não significativas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

² Sem dados.

G1, G2, G3, G4 e G5 são grupos formados por lagartas de *A. gemmatalis* não parasitadas e coletadas em campo no primeiro, segundo, terceiro, quarto e quinto ínstar, respectivamente. G1p, G2p, G3p, G4p e G5p são grupos formados por lagartas de *A. gemmatalis* parasitadas e coletadas em campo no primeiro, segundo, terceiro, quarto e quinto ínstar, respectivamente.

3.3. Determinação do ínstar larval parasitado por *Microcharops anticarsiae* em campo

As caixas na Figura 2.A indicam a duração do primeiro (L1), segundo (L2), terceiro (L3), quarto (L4), quinto (L5) ínstar e período de pré-pupa (pP) de lagartas parasitadas de *A. gemmatalis* após a coleta em campo e criação em laboratório.

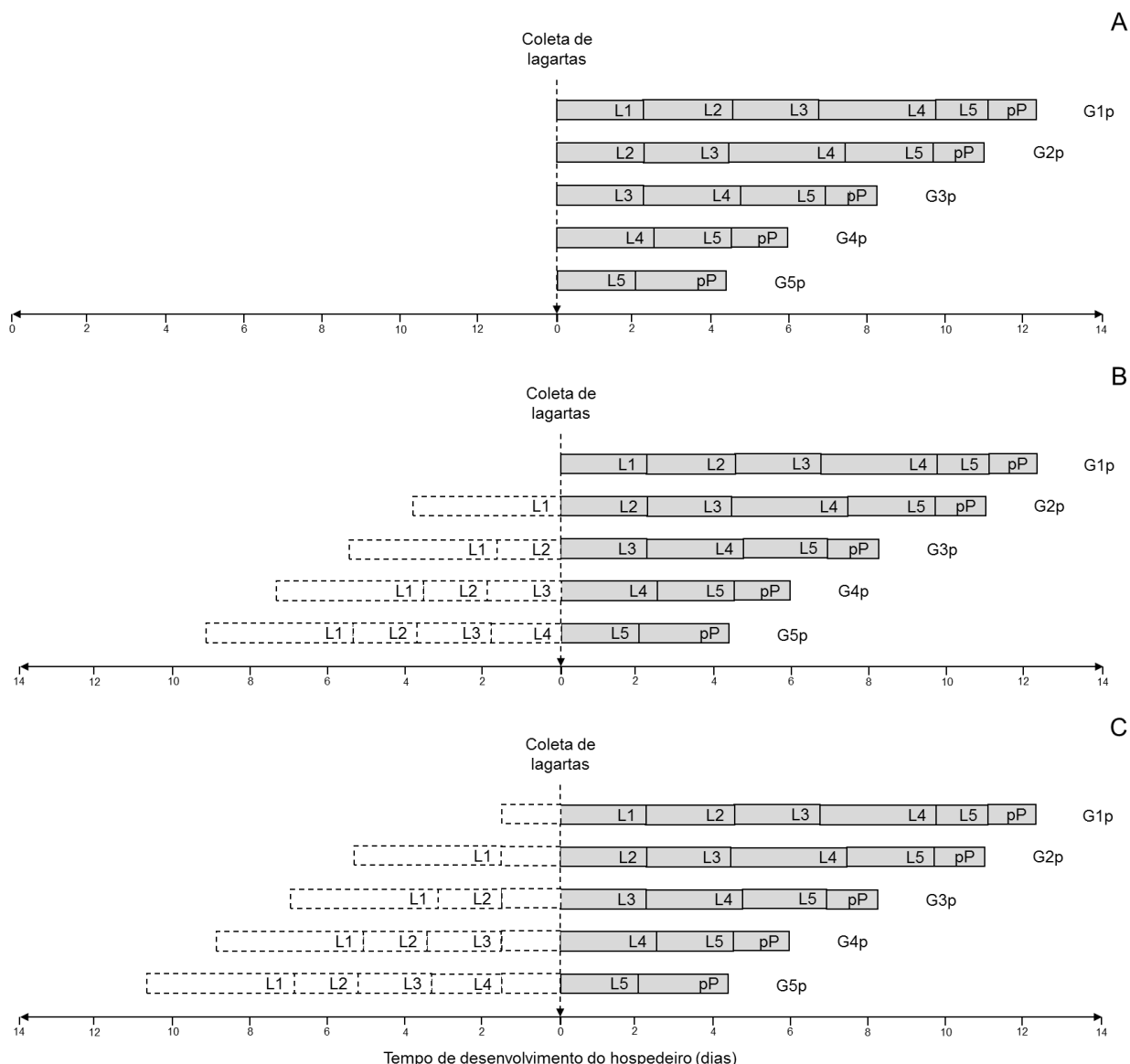


Figura 2. Desenvolvimento de lagartas parasitadas de *Anticarsia gemmatalis* após a coleta em campo (A), assumindo que as lagartas mudaram de ínstar no dia da coleta – condição mais favorável (B) e que mudaram de ínstar 1,59 dias antes da coleta – condição mais desfavorável (C).

G1p, G2p, G3p, G4p e G5p são os grupos formados por lagartas de *A. gemmatalis* parasitadas e coletadas no primeiro, segundo, terceiro, quarto e quinto ínstar, respectivamente. L1, L2, L3, L4, L5 e pP correspondem à duração do primeiro, segundo, terceiro, quarto, quinto ínstar e período de pré-pupa, respectivamente. As caixas pontilhadas correspondem à duração esperada do primeiro, segundo, terceiro e quarto ínstar larval.

Na Figura 2.B, os grupos de coleta (G1p até G5p) foram preenchidos com a duração esperada dos ínstar larvais de *A. gemmatalis*. As caixas pontilhadas correspondem à duração esperada do primeiro (L1), segundo (L2), terceiro (L3) e quarto (L4) ínstar de *A. gemmatalis* calculada a partir da análise de regressão para

uma temperatura de 25,26 °C. Este é o cenário mais favorável para a determinação do ínstar parasitado, posto que, assume-se que as lagartas mudaram de ínstar no dia da coleta em campo.

O cenário mais desfavorável, apresenta-se na Figura 2.C. Neste caso, assume-se que as lagartas de *A. gemmatalis* mudaram de ínstar 1,59 dias antes da coleta em campo. Este valor (1,59 dias) corresponde ao tempo máximo que uma lagarta de *A. gemmatalis* precisa para completar o primeiro ínstar larval (3,80 dias) a 25,26 °C.

A duração do período de ovo-larva de *M. anticarsiae* foi determinado no tratamento G1p como de 11,07 dias (Tabela 2). Este é o período mínimo de ovo-larva de *M. anticarsiae* porque existe a probabilidade do parasitismo ter ocorrido no dia ou dias antes da coleta das lagartas em campo.

Na Figura 3, os dados de duração dos ínstaes de *A. gemmatalis* parasitadas por *M. anticarsiae* foram organizados a partir da emergência do parasitoide. Nas Figuras 3.B e 3.C, incluiu-se a duração esperada dos ínstaes de *A. gemmatalis* para a condição mais favorável e mais desfavorável, respectivamente.

De acordo com os resultados, as lagartas de *A. gemmatalis* do grupo G1p (N=14), G2p (N=17), G3p (N=28), G4p (N=34) e G5p (N=3) foram parasitadas por *M. anticarsiae* no primeiro ínstar larval na condição mais favorável (Figura 3.B). Porém, na condição mais desfavorável, o 50% de lagartas de *A. gemmatalis* foram parasitadas ambas no primeiro (G1p e G4p) e segundo (G2p, G3p e G5p) ínstar larval.

No geral, de acordo com os resultados, pode-se inferir que a população de lagartas de *A. gemmatalis* coletada em campo foi parasitada por *M. anticarsiae* quando pequenas, primeiro e segundo ínstar, em lavouras de soja tolerante ao glifosato.

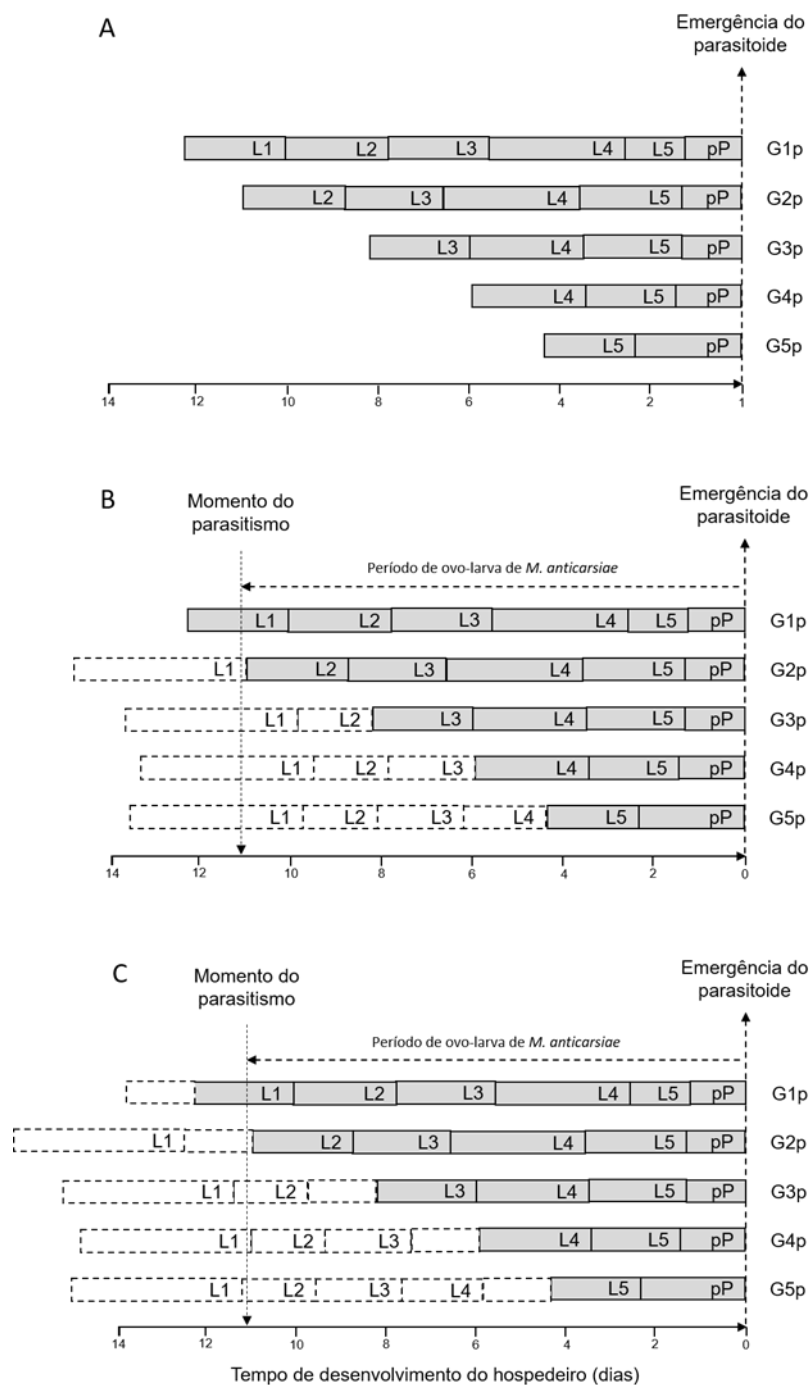


Figura 3. Resultado do ínstar larval de *Anticarsia gemmatilis* parasitado por *Microcharops anticarsiae* em campo de soja tolerante ao glifosato, ano agrícola de 2014/15.

G1p, G2p, G3p, G4p e G5p são os grupos formados por lagartas de *A. gemmatilis* parasitadas e coletadas no primeiro, segundo, terceiro, quarto e quinto ínstar, respectivamente. L1, L2, L3, L4, L5 e pP correspondem à duração do primeiro, segundo, terceiro, quarto, quinto ínstar e período de pré-pupa, respectivamente. As caixas pontilhadas correspondem à duração esperada do primeiro, segundo, terceiro e quarto ínstar larval de *A. gemmatilis*.

4. DISCUSSÃO

4.1. Identificação da espécie e parasitismo

Microcharops anticarsiae é um endoparasitoide cenobionte solitário que parasita os ínstaras iniciais de lagartas de *A. gemmatilis* causando mortalidade principalmente no quarto ínstar, porém, pode também causar morte de lagartas no quinto ínstar similar ao relatado por Corrêa-Ferreira (1979) para a espécie *Microcharops bimaculata* (Ashmead, 1895) (Hymenoptera: Ichneumonidae).

Trabalhos desenvolvidos por Corrêa-Ferreira (1979) determinaram porcentagens de parasitismo de 60 a 70% em lagartas de *A. gemmatilis* em soja convencional, resultados semelhantes aos determinados no presente estudo sendo que o parasitismo em lagartas coletadas no quarto ínstar foi de 31,98% correspondente a aproximadamente a metade do total parasitado. Essas altas porcentagens de parasitismo natural indicam que a população da lagarta-da-soja vem sendo regulada no campo.

4.2. Desenvolvimento de lagartas de *Anticarsia gemmatilis* parasitadas por *Microcharops anticarsiae* em campo

Poucos estudos têm focado no efeito do parasitismo no desenvolvimento larval e comportamento em lagartas-da-soja a fim de aprofundar o entendimento da interação hospedeiro-parasitoide. Nesse sentido, os resultados dos estudos indicam claramente que o parasitismo por *M. anticarsiae* afeta a duração do quinto ínstar larval, período de pré-pupa e larval de *A. gemmatilis* alimentadas com folhas de soja tolerante ao glifosato.

Especificamente, o parasitismo por *M. anticarsiae* reduz a duração do quinto ínstar e período de pré-pupa. Uma possível explicação às alterações na duração dos ínstaras larvais em lagartas parasitadas de *A. gemmatilis* pode ser devido às

mudanças na produção de hormônios reguladores de crescimento provocada pelo parasitoide *M. anticarsiae* em desenvolvimento (BECKAGE; GELMAN, 2004).

Por outro lado, os resultados encontrados na presente pesquisa indicam que o período larval e consequentemente o consumo de folhas de soja por lagartas de *A. gemmatilis* parasitadas por *M. anticarsiae* foi menor gerando pré-pupas de menor peso, o que indica que o parasitismo provoca que as lagartas parasitadas tenham menos tempo para causar injúrias nas plantas em campo.

Os efeitos do parasitismo também são observados por Mironidis e Savopoulou-Soultani (2009) no peso de lagartas de *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae) parasitadas por *Hyposoter didymator* (Thunberg, 1822) (Hymenoptera: Ichneumonidae), onde todos os ínstaros dos hospedeiros parasitados apresentaram um peso menor em comparação com os hospedeiros não parasitados. Resultados similares de menor peso de pré-pupas também foram encontrados por Niogret, Sait e Rohani (2009) em *Plodia interpunctella* Hübner, 1813 (Lepidoptera: Pyralidae) parasitada por *Venturia canescens* (Gravenhorst, 1829) (Hymenoptera: Ichneumonidae).

A maioria dos imaturos do parasitoide deixou o hospedeiro no quarto ínstar, possivelmente, porque os imaturos do parasitoide permitem que suas lagartas hospedeiras se desenvolvam até um tamanho determinado (quarto ínstar, na maioria), a fim de suprir as necessidades nutricionais destruindo o interior do hospedeiro (BECKAGE; GELMAN, 2004; MIRONIDIS; SAVOPOULOU-SOULTANI, 2009). Poucos parasitoides deixaram o hospedeiro no quinto ínstar, possivelmente devido ao custo associado para superar as defesas imunológicas, controlar o desenvolvimento e deter o crescimento do hospedeiro neste ínstar é mais elevado do que no quarto ínstar (STRAND; PECH, 1995). Outra possível explicação poderia ser em função aos imaturos do parasitoide não ser capazes de consumir totalmente o hospedeiro e/ou perfurar o tegumento antes de empupar e, eventualmente, morrem dentro do hospedeiro como ocorre em algumas espécies de ichneumonídeos (HARVEY, 1996; HARVEY; STRAND, 2002; REUDLER TALSMA et al., 2007).

Foi observado também um comportamento pré-pupal prematuro na maioria das lagartas parasitadas de *A. gemmatilis*, isto é, a maioria das pré-pupas se formam no final do quarto ínstar do hospedeiro do que no início ou durante o quinto ínstar larval.

Assim, estas observações indicam claramente que *M. anticarsiae* manipula o desenvolvimento e comportamento de lagartas de quarto ínstar de *A. gemmatilis*. Em relação a este fato, estudos desenvolvidos com *Polysphincta janzeni* Gauld, 1991 (Hymenoptera: Ichneumonidae) demonstraram que este parasitoide manipula o comportamento de formação de teia de seu hospedeiro, *Cyclosa morretes* Levi, 1999 (Araneae: Araneidae), o que evita a captura do parasitoide no momento da emergência (KLOSS et al., 2016). Portanto, sugere-se que *M. anticarsiae* manipula o comportamento de *A. gemmatilis* para obter vantagem do refugio construído para pupação do hospedeiro.

4.3. Determinação do ínstar larval parasitado por *Microcharops anticarsiae* em campo

Os resultados obtidos e ilustrados na Figura 3 demonstram que *M. anticarsiae* parasita lagartas de *A. gemmatilis* de primeiro e segundo ínstar em soja transgênica tolerante ao glifosato em campo. Além disso, a razão sexual do parasitoide nas lagartas coletadas produziu mais fêmeas do que machos.

Portanto, sugere-se fortemente que *M. anticarsiae* parasita mais intensamente ínstaes jovens (primeiro e segundo) de *A. gemmatilis* que são os ínstaes mais favoráveis a fim de minimizar os riscos de mortalidade, que implicam em parasitar ínstaes mais velhos e que são lagartas mais irritáveis e capazes de ataca-lo, ferindo-o, por ocasião da oviposição. Estes resultados discordam com os obtidos por Patel; Habib (1993), onde demonstraram que lagartas de quarto ínstar são favoráveis para o desenvolvimento e produção de maior quantidade de fêmeas de *M. anticarsiae*.

Além disso, sugere-se pelos resultados que o imaturo do parasitoide tem mais tempo para se desenvolver dentro de hospedeiros jovens e têm melhores condições fisiológicas para o desenvolvimento, posto que, de acordo com Beckage; Gelman (2004) e Strand; Pech (1995) hospedeiros jovens possuem respostas imunes menos eficazes ou produzem menor quantidade de defesas imunológicas do que hospedeiros maiores mais desenvolvidos.

Outros trabalhos semelhantes com ichneumonídeos, porém, com espécies diferentes de hospedeiro, são encontrados na literatura nas quais os ínstaras larvais mais preferidos pelo parasitoide são lagartas de segundo ínstar. Por exemplo, Murillo, Hunt e Vanlaerhoven (2012) encontraram que em *Campoletis sonorensis* (Cameron, 1886) (Hymenoptera: Ichneumonidae), lagartas de segundo ínstar recém mudadas (3-5 dias de idade) de *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae) representam o ínstar hospedeiro mais favorável para o desenvolvimento do parasitoide. Resultados similares foram encontrados por Nofemela e Kfir (2008) com *Diadegma mollipla* Holmgren, 1868 (Hymenoptera: Ichneumonidae) parasitando lagartas de segundo ínstar de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). Além disso, Hatem e Shawer (2016) têm demonstrado que hospedeiros de segundo ínstar de *Spodoptera littoralis* (Boisduval, 1833) (Lepidoptera: Noctuidae) são adequadas para a criação massal do parasitoide *H. didymator*.

No geral, conclui-se que *M. anticarsiae* parasita em lagartas pequenas (primeiro e segundo ínstar) de *A. gemmatilis* em lavouras de soja tolerante ao glifosato, que *M. anticarsiae* se desenvolve até a pré-pupa formada a partir do quarto ínstar larval de *A. gemmatilis* de onde emerge e tece o casulo, e que o parasitismo de *M. anticarsiae* reduz a duração do quinto ínstar larval, período de pré-pupa e larval de *A. gemmatilis*.

5. REFERÊNCIAS

BECKAGE, N. E.; GELMAN, D. B. Wasp parasitoid disruption of the host development: Implications for new biologically based strategies for insect control. **Annual Review of Entomology**, v. 49, n. 1, p. 299–330, 2004.

BERNAL, J. S.; PRASIFKA, J.; SÉTAMOU, M.; HEINZ, K. M. Transgenic insecticidal cultivars in integrated pest management: challenges and opportunities. In: KOUL, O.; DHALIWAL, G. S.; CUPERUS, G. W. (Eds.). **Integrated pest management: potential, constraints and challenges**. Wallingford: CABI, 2004. p. 123–145.

CORRÊA-FERREIRA, B.S. Incidência de parasitas em lagartas da soja. In: SEMINARIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 1., 1978, Londrina. **Anais...** Londrina: EMBRAPA-CNPSO, v. 2, p. 79-91, 1979.

GORDH, G.; LEGNER, E. F.; CALTAGIRONE, L. E. Biology of Parasitic Hymenoptera. In: BELLOWS, T. S.; FISHER, T. W. (Eds.). **Handbook of Biological Control**. San Diego: Academic Press, 1999. p. 355–381.

HARVEY, J. A. *Venturia Canescens* parasitizing *Galleria mellonella* and *Anagasta kuehniella*: Is the parasitoid a conformer or regulator? **Journal of Insect Physiology**, v. 42, n. 11–12, p. 1017–1025, 1996.

HARVEY, J. A.; STRAND, M. R. The developmental strategies of endoparasitoid wasps vary with host feeding ecology. **Ecology**, v. 83, n. 9, p. 2439–2451, 2002.

HATEM, A. E.; SHAWER, D. M.; VARGAS-OSUNA, E. Parasitism and optimization of *Hyposoter Didymator* (Hymenoptera: Ichneumonidae) rearing on *Spodoptera littoralis* and *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 109, n. 3, p. 1058–1063, 2016.

KLOSS, T. G.; GONZAGA, M. O.; ROXINOL, J. A. M.; SPERBER, C. F. Host behavioural manipulation of two orb-weaver spiders by parasitoid wasps. **Animal Behaviour**, v. 111, p. 289–296, 2016.

MIRONIDIS, G. K.; SAVOPOULOU-SOULTANI, M. Development, survival and growth rate of the *Hyposoter didymator*–*Helicoverpa armigera* parasitoid–host system: Effect of host instar at parasitism. **Biological Control**, v. 49, n. 1, p. 58–67, 2009.

MURILLO, H.; HUNT, D. W. A.; VANLAERHOVEN, S. L. Fecundity and life table parameters of *Campoletis sonorensis* (Hymenoptera: Ichneumonidae), an endoparasitoid of the cabbage looper *Trichoplusia ni* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), under laboratory conditions. **Biocontrol Science and Technology**, v. 22, n. 2, p. 125–134, 2012.

NIOGRET, J.; SAIT, S. M.; ROHANI, P. Parasitism and constitutive defence costs to host life-history traits in a parasitoid-host interaction. **Ecological Entomology**, v. 34, n. 6, p. 763–771, 2009.

NOFEMELA, R. S.; KFIR, R. *Diadegma mollipla* parasitizing *Plutella xylostella*: Host instar preference and suitability. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 126, n. 1, p. 9–17, 2007.

PATEL, P. N.; HABIB, M. E. M. *Microcharops anticarsiae* (Hym.: Ichneumonidae) parasitoid of *Anticarsia gemmatilis* (Lep.: Noctuidae): Host Age preference, sex ratio effects and functional response. **Entomophaga**, v. 38, n. 4, p. 511–517, 1993.

PATEL, P. N.; HABIB, M. E. M. Development of *Microcharops anticarsiae* Gupta (Hym., Ichneumonidae), an endoparasitoid of the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatilis* (Lep., Noctuidae) and morphology of its immature stages. **Journal of Applied Entomology**, v. 122, n. 1–5, p. 369–373, 1998.

PENNACCHIO, F.; STRAND, M. R. Evolution of developmental strategies in Parasitic Hymenoptera. **Annual Review of Entomology**, v. 51, n. 1, p. 233–258, 2006.

R CORE TEAM. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. Viena, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2016.

REUDLER TALSMA, J. H.; ELZINGA, J. A.; HARVEY, J. A.; BIERE, A. Optimum and maximum host sizes at parasitism for the endoparasitoid *Hyposoter didymator* (Hymenoptera: Ichneumonidae) differ greatly between two host species. **Environmental Entomology**, v. 36, n. 5, p. 1048–1053, 2007.

STRAND, M. R.; PECH, L. L. immunological basis for compatibility in parasitoid-host relationships. **Annual Review of Entomology**, v. 40, n. 1, p. 31–56, 1995.

CAPÍTULO 3 – Aspectos biológicos de *Microcharops anticarsiae* parasitando lagartas de *Anticarsia gemmatalis* alimentadas com soja transgênica

RESUMO – A soja transgênica tem sido liberada comercialmente em várias partes do mundo para integrar o manejo de pragas. Porém, poucos estudos sobre o efeito da soja transgênica sob os inimigos naturais têm sido realizados antes da comercialização. O trabalho teve como objetivos (1) determinar o efeito de criações sucessivas de *Microcharops anticarsiae*, parasitando lagartas de *Anticarsia gemmatalis* de primeiro ínstar alimentadas com soja tolerante ao glifosato nos parâmetros biológicos do parasitoide e (2) determinar o efeito da soja tolerante ao glifosato e resistente a insetos sobre a longevidade de adultos de *M. anticarsiae*. Os resultados indicam que não houve diferença nos parâmetros biológicos de *M. anticarsiae* parasitando lagartas de *A. gemmatalis* alimentadas com folhas de soja tolerante ao glifosato, durante três gerações em laboratório. Quando analisadas por sexo, a duração de ovo-larva e ovo-adulto foi menor em fêmeas do que em machos. A porcentagem de parasitoides emergidos das gerações F1, F2 e F3 foi 92, 81 e 90% com razão sexual de 0,55, 0,48 e 0,58, respectivamente. A longevidade total do parasitoide foi mais longa em soja tolerante ao glifosato do que em soja resistente a insetos. A longevidade das fêmeas do parasitoide foi mais longa na soja tolerante ao glifosato do que em soja resistente a insetos enquanto que a longevidade dos machos do parasitoide foi mais curta em ambas as sojas transgênicas. Finalmente, conclui-se que os parâmetros biológicos de *M. anticarsiae* não são afetados quando criados durante três gerações em laboratório e que a soja transgênica tolerante ao glifosato afeta positivamente a longevidade total e longevidade de fêmeas de *M. anticarsiae* e que a soja resistente a insetos e tolerante ao glifosato afeta negativamente a longevidade de machos do parasitoide.

Palavras-chave: Controle biológico, Cry1Ac, glifosato, parasitismo, preferência de hospedeiro

CHAPTER 3 – Biological aspects of *Microcharops anticarsiae* parasitising larvae of *Anticarsia gemmatalis* fed on transgenic soybean

ABSTRACT – Transgenic soybean was released commercially in several parts of the world to integrate the pest management. However, a few studies about the effect of transgenic soybean on the natural enemies were carried out before commercialization. This study aimed to (1) determine the effect of continuous rearing of *Microcharops anticarsiae* parasitizing *Anticarsia gemmatalis* larvae of the first instar fed on soybean tolerant to glyphosate on the biological parameters of the parasitoid, and (2) determine the effect of soybean tolerant to glyphosate and resistant to insects on the longevity of *M. anticarsiae*. The results indicate that there were no differences in the biological parameters of *M. anticarsiae* parasitizing *A. gemmatalis* larvae fed on soybean tolerant to glyphosate during three generations in the laboratory. When analysed by sex, the duration of egg-larva and egg-adult was shorter in females than males. The percentage of parasitoids emerged in generations F1, F2, and F3 was 92, 81, and 90% with a sex ratio of 0.55, 0.48, and 0.58, respectively. The total longevity of adults was longer in soybean tolerant to glyphosate than resistant to insects. The longevity of females *M. anticarsiae* was longer in soybean tolerant to glyphosate than resistant to insects while the longevity of males was shorter in the two transgenic soybean. Finally, we conclude that the biological parameters of *M. anticarsiae* are not affected when reared during three generations in the laboratory and the soybean tolerant to glyphosate affects positively the total longevity and longevity of females *M. anticarsiae* and that soybean resistant to insects and tolerant to glyphosate affects negatively the longevity of males.

Key words: Biological control, Cry1Ac, glyphosate, parasitism, host preference

1. INTRODUÇÃO

Em soja convencional, o endoparasitoide larval solitário *Microcharops anticarsiae* Gupta, 1987 (Hymenoptera: Ichneumonidae) era considerada um eficiente agente de control biológico natural da lagarta-da-soja *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Erebidæ) (PATEL; HABIB, 1998).

Anticarsia gemmatalis é uma das principais pragas da cultura da soja nas Américas e ocorre entre 40 °N nos Estados Unidos da América a 39 °S na Argentina (SOSA-GÓMEZ, 2004) sendo que no Brasil, a lagarta-da-soja ocorre em todas as áreas onde a soja é cultivada (MOSCARDI et al., 2012).

Poucos estudos têm sido realizados com *M. anticarsiae* sob condições de laboratório apesar de seu potencial como agente de controle biológico. Uma das principais limitações no laboratório é a manutenção de populações viáveis desta espécie de ichneumonídeo de uma geração a outra.

Por outro lado, os possíveis efeitos das plantas transgênicas nos parâmetros biológicos de *M. anticarsiae* são desconhecidos na literatura. Neste contexto, uma maneira em que as plantas transgênicas resistentes a insetos podem afetar os parasitoides é alterando a liberação de voláteis induzidos pela herbivoria, isto é, as plantas são pouco danificadas e, conseqüentemente, a indução de voláteis diminui (DEAN; de MORAES, 2006; LIU et al., 2015) reduzindo a chance de localização das culturas pelo parasitoide no campo.

Neste trabalho foi pesquisado o efeito da criação de *M. anticarsiae* durante três gerações parasitando lagartas de *A. gemmatalis* de primeiro ínstar alimentadas com soja transgênica tolerante ao glifosato na duração do período de ovo-larva, pupa e ovo-adulto com vistas à produção massal e sua integração em futuros programas de controle biológico. Além disso, foi pesquisado o efeito da presença de folhas de cultivares de soja transgênica resistente a insetos e tolerante ao glifosato na longevidade de adultos de *M. anticarsiae*. As hipóteses do trabalho foram (1) que os parâmetros biológicos de *M. anticarsiae* são afetados pelo menos em uma geração e (2) que a soja transgênica resistente a insetos e tolerante ao glifosato reduz a longevidade de adultos de *M. anticarsiae*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Localização do experimento

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Controle Biológico e Manejo Integrado de Pragas na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Jaboticabal-SP (21°14'28" S; 48°17'23" W), Brasil, nos anos agrícolas 2014/15 e 2015/16. Os experimentos foram conduzidos sob condições controladas de temperatura (25 ± 2 °C), umidade relativa ($60 \pm 10\%$) e fotofase de 14 h.

2.2. Experimento 1: Efeito de três gerações sucessivas nos parâmetros biológicos de *Microcharops anticarsiae* parasitando *Anticarsia gemmatalis*

2.2.1. Obtenção dos espécimens

Os parasitoides foram obtidos de lagartas pequenas e médias de *A. gemmatalis* coletadas em campo de soja com a cultivar SYN 1365 RR®, ano agrícola 2014/15. A coleta das lagartas foi realizada aos 63 dias após a emergência utilizando um pano de batida. As lagartas foram mantidas em laboratório até a emergência dos adultos de *M. anticarsiae* que foram a geração parental do estudo.

2.2.2. Criação de *Microcharops anticarsiae*

Após a emergência, os adultos de *M. anticarsiae* da geração parental foram individualizadas e mantidas em gaiolas plásticas transparentes (17x17x17.5 cm). Os adultos do parasitoide foram alimentados com uma gota de mel puro e algodão embebido em água, trocado diariamente. As fêmeas foram acasaladas entre os oito e 14 dias após a emergência, que foi o período de maturidade para o acasalamento de acordo com resultados prévios. As fêmeas não foram acasaladas com os machos irmãos.

O parasitismo foi realizado em gaiolas plásticas transparentes (17x17x17.5 cm) contendo 10 lagartas de *A. gemmatalis* de três dias de idade (primeiro ínstar) em uma folha de soja. A folha de soja foi colocada em um frasco de vidro (20 ml x 5,5 cm) contendo água para evitar a desidratação. As fêmeas acasaladas de *M. anticarsiae* foram colocadas nas gaiolas de parasitismo 24 horas após acasalamento. O período de parasitismo foi de quatro horas (8:00-12:00).

Após o período de parasitismo, as lagartas foram individualizadas em placas de Petri contendo um folíolo de soja para alimentação que foi trocado diariamente. Previamente, as folhas de soja foram higienizadas com uma solução de hipoclorito de sódio (5%) durante 10 minutos e foram colocadas em água e enxaguadas três vezes.

As placas de Petri foram seladas com filme plástico para evitar a desidratação dos folíolos. As folhas utilizadas para alimentação das lagartas foram folhas do terço médio coletadas na cultivar SYN 1365 RR® (tolerante ao herbicida glifosato) em campo, ano agrícola de 2014/15.

Este procedimento foi repetido geração após geração avaliando assim o efeito da geração sobre os parâmetros biológicos de *M. anticarsiae*. O estudo foi realizado durante três gerações de *M. anticarsiae* parasitando lagartas de primeiro ínstar de *A. gemmatalis* em função da disponibilidade de folhas no campo.

2.2.3. Parâmetros biológicos de *Microcharops anticarsiae*

Para cada geração, 100 lagartas de primeiro ínstar de *A. gemmatalis* distribuídos em grupos de 10 lagartas foram utilizados. Uma fêmea diferente foi utilizada para parasitar um grupo de 10 lagartas, onde cada lagarta foi considerada uma repetição.

Os parâmetros biológicos avaliados foram a duração de ovo-larva, pupa e ovo-adulto de *M. anticarsiae* determinado após o parasitismo das lagartas de *A. gemmatalis*. A duração de ovo-larva foi determinada desde o dia do parasitismo até a emergência do imaturo do parasitoide de dentro da lagarta hospedeira e a duração de ovo-adulto foi determinada desde o dia do parasitismo até a emergência do adulto do parasitoide. Estes parâmetros foram registrados diariamente para cada repetição em

cada placa Petri. Este procedimento foi repetido em cada geração até a terceira geração.

2.3. Experimento 2: Efeito da soja transgênica na longevidade de *Microcharops anticarsiae*

Os adultos de *M. anticarsiae* foram obtidos da criação de manutenção com lagartas de primeiro ínstar de *A. gemmatilis* alimentadas com folhas de soja da cultivar SYN 1365 RR[®], ano agrícola de 2015/16.

Foi planejado um delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos e 25 repetições (parasitoides). Os tratamentos foram adultos recém emergidos de *M. anticarsiae* confinadas em gaiolas plásticas transparentes (17x17x17,5 cm) contendo folhas de soja tolerante ao glifosato (BMX Potência RR[®]), soja resistente a insetos (M7110 IPRO[®]) e o controle (sem folha de soja), ano agrícola de 2015/16. Os adultos utilizados no experimento foram alimentados com água embebida em algodão e uma gota de mel puro.

As folhas de soja foram colocadas em frascos transparentes de vidro (20 ml x 5,5 cm) contendo água para evitar a desidratação. Os frascos transparentes de vidro e as folhas de soja foram trocados diariamente. Antes de ser colocadas nas gaiolas, as folhas foram higienizadas com uma solução de hipoclorito de sódio (5%) durante 10 minutos e foram colocadas em água e enxaguadas três vezes.

O parâmetro biológico longevidade de adultos de *M. anticarsiae* foi avaliado diariamente para cada repetição em cada gaiola plástica. Este procedimento foi repetido até a morte do último adulto de *M. anticarsiae* nas gaiolas.

2.4. Análise dos dados

As análises estatísticas foram executadas utilizando o programa estatístico IBM SPSS Statistics 22.0 para Windows. A normalidade e homogeneidade de variâncias foram testadas pelo teste de Shapiro-Wilk e Levene ($\alpha \leq 0,05$), respectivamente. Para as análises paramétricas, os dados dos tratamentos foram analisados pela ANOVA e

complementados pelo teste de Tukey. Para as análises não paramétricas, os dados dos tratamentos foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis e complementados pelo teste de Mann-Whitney. Para todos os testes, as diferenças foram consideradas significativas para $\alpha \leq 0,05$.

3. RESULTADOS

3.1. Experimento 1: Efeito de três gerações sucessivas nos parâmetros biológicos de *Microcharops anticarsiae* parasitando *Anticarsia gemmatalis*

De um total de 300 lagartas de *A. gemmatalis* de primeiro ínstar oferecidas a *M. anticarsiae*, 87,67% foram parasitadas e utilizadas na análise do experimento. Diferenças na duração de ovo-larva ($H=0,174$, $df=2$; $p=0,917$), pupa ($H=0,704$, $df=2$; $p=0,703$) e ovo-adulto ($H=0,198$, $df=2$; $p=0,906$) de *M. anticarsiae* não foram detectadas entre as gerações (Fig. 1) pelo teste de Kruskal-Wallis ($\alpha=0,05$).

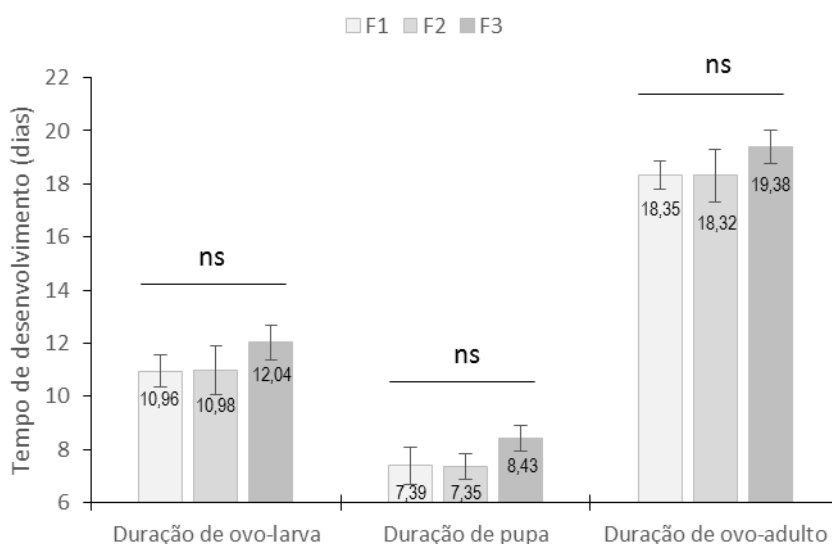


Figura 1. Duração de ovo-larva, pupa e ovo-adulto de *Microcharops anticarsiae* parasitando lagartas de *Anticarsia gemmatalis* de primeiro instar alimentadas com folhas de soja tolerante ao glifosato.

As letras ns acima das barras indicam diferenças não significativas ($\alpha \leq 0,05$).

Quando analisadas de acordo com o sexo, diferenças na duração de ovo-larva e ovo-adulto entre fêmeas e machos de *M. anticarsiae* foram detectadas em cada geração pelo teste de Mann-Whitney ($\alpha \leq 0,05$) (Fig. 2). Nessas três gerações, a duração de ovo-larva e ovo-adulto foi menor em fêmeas quando comparado com os machos. No caso da duração de pupa, diferenças entre fêmeas e machos de *M. anticarsiae* não foram detectadas.

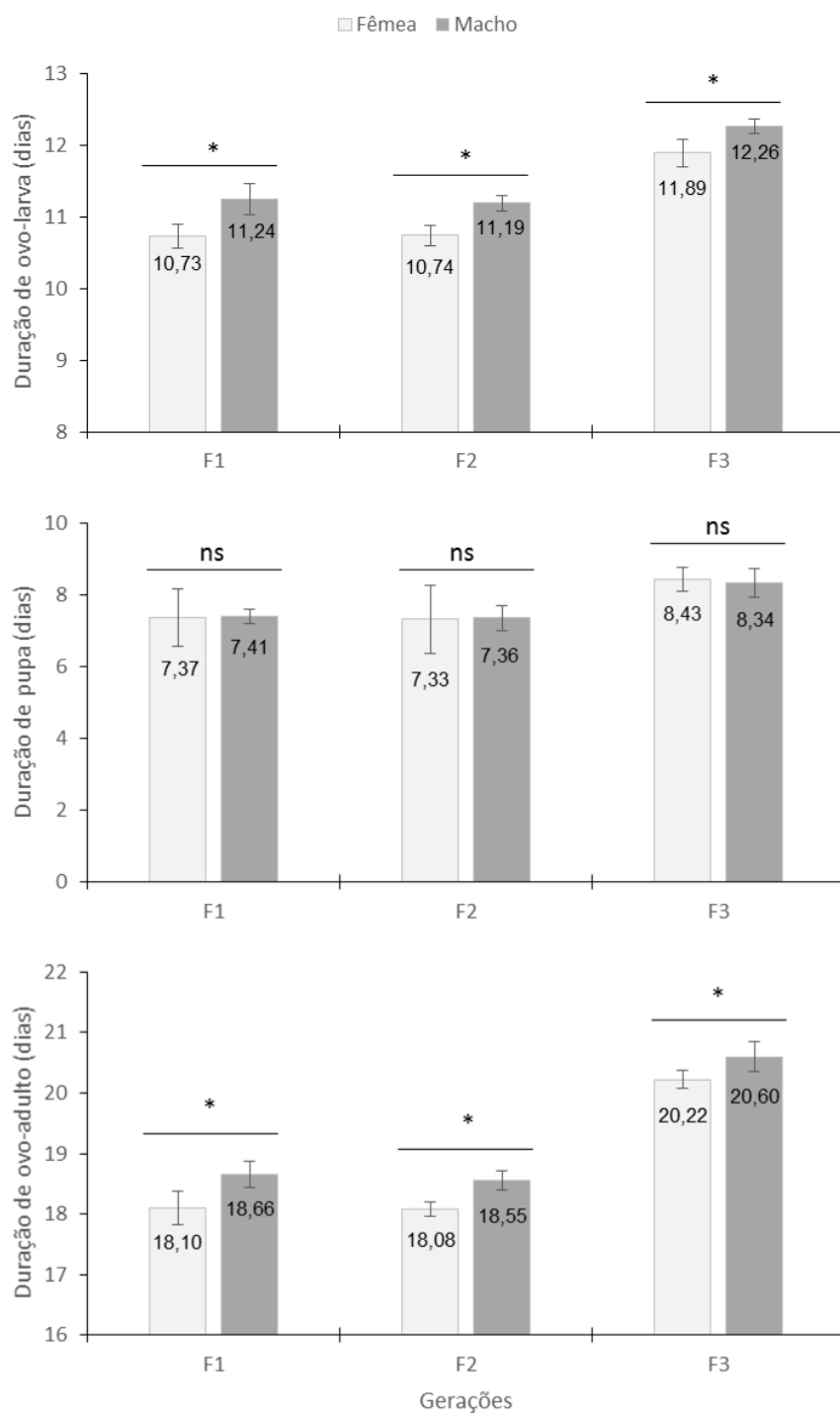


Figura 2. Duração de ovo-larva, pupa e ovo-adulto de fêmeas e machos de *Microcharops anticarsiae* parasitando lagartas de *Anticarsia gemmatalis* de primeiro ínstar alimentadas com folhas de soja tolerane ao glifosato.

As letras ns e * acima das barras indicam diferenças não significativas e significativas ($\alpha \leq 0,05$), respectivamente.

A porcentagem de parasitoides emergidos foi 92, 81 e 90% com razão sexual de 0,55, 0,48 e 0,58 para as gerações F1, F2 e F3, respectivamente, em lagartas de *A. gemmatalis* parasitadas no primeiro ínstar (três dias de idade).

Portanto, os resultados do trabalho indicam que os parâmetros biológicos duração de ovo-larva, pupa e ovo-adulto de *M. anticarsiae* parasitando lagartas de *A. gemmatalis* de primeiro ínstar não foram afetadas em três gerações e que a duração de ovo-larva e ovo-adulto de *M. anticarsiae* foi mais curto em fêmeas.

3.2. Experimento 2: Efeito da soja transgênica na longevidade de *Microcharops anticarsiae*

Os dados na Figura 3 indicam diferenças na longevidade total de adultos e na longevidade em fêmeas e machos de *M. anticarsiae* pelo teste de Tukey ($\alpha \leq 0,05$). A longevidade total de adultos de *M. anticarsiae* no tratamento com soja tolerante ao glifosato ($X=20,25 \pm 1,99$ dias) foi diferente e superior ($F=6,25$; $df=2,67$; $P<0,01$) à longevidade no tratamento com soja resistente a insetos ($X=13,90 \pm 1,24$ dias).

Na Figura 3, quando analisados separadamente as fêmeas e os machos de *M. anticarsiae*, os resultados indicam que a longevidade das fêmeas no tratamento com soja tolerante ao glifosato ($X=27,17 \pm 0,59$) foi diferente e superior ($F=21,49$; $df=2,33$; $P<0,01$) à longevidade no tratamento com soja resistente a insetos ($X=11,00 \pm 1,85$ dias). Em contraste, a longevidade dos machos de *M. anticarsiae* nos tratamentos com soja tolerante ao glifosato ($X=13,33 \pm 2,74$ dias) e resistente a insetos ($X=16,80 \pm 1,55$ dias) foi significativamente menor ($F=3,08$; $df=2,33$; $P<0,05$) à longevidade no controle ($X=23,00 \pm 4,59$ dias).

No geral, os resultados demonstram que a longevidade total de adultos de *M. anticarsiae* foi maior em soja tolerante ao glifosato e que a longevidade das fêmeas foi mais longa em soja tolerante ao glifosato, enquanto que a longevidade dos machos foi reduzida em soja tolerante ao glifosato e resistente a insetos.

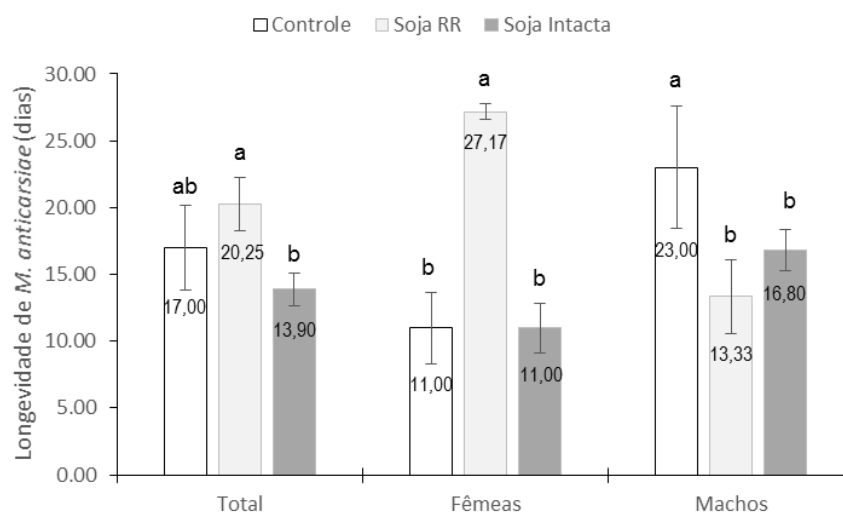


Figura 3. Longevidade de adultos de *Microcharops anticarsiae* confinadas em gaiolas com folhas de soja da cultivar BMX Potência RR® (Soja RR) e M7110 IPRO® (Soja Intacta).

As letras minúsculas acima das barras indicam diferenças significativas dentro dos grupos total, fêmeas e machos ($\alpha \leq 0,05$).

4. DISCUSSÃO

4.1. Experimento 1: Efeito de três gerações sucessivas nos parâmetros biológicos de *Microcharops anticarsiae* parasitando *Anticarsia gemmatalis*

Poucos estudos têm sido desenvolvidos com relação a criações bem-sucedidas de ichnemonídeos em laboratório, isto devido à complexidade da biologia e comportamento deste grupo de parasitoides. Dentre os casos de sucesso do controle biológico com parasitoides, a criação e liberação de *Cotesia flavipes* Cameron, 1891 (Hymenoptera: Braconidae) é um exemplo do potencial dos parasitoides na agricultura, sendo no caso do cultivo da cana-de-açúcar o método de controle mais eficaz para a broca-da-cana (BOTELHO; MACEDO, 2002; DINARDO-MIRANDA, 2008).

Os resultados do presente estudo demonstram que a duração de ovo-larva, pupa e ovo-adulto não foram afetadas pela criação de *M. anticarsiae* parasitando lagartas de *A. gemmatalis* de primeiro ínstar alimentadas com soja tolerante ao glifosato durante três gerações em laboratório (Figura 1).

A duração dos parâmetros do estudo foram similares aos encontrados por (PATEL; HABIB, 1998) onde a duração de ovo-larva, pupa e ovo-adulto foram de 12,30, 6,80 e 18,48 dias, respectivamente, em *M. anticarsiae* parasitando lagartas de terceiro ínstar de *A. gemmatalis* alimentadas com soja convencional da variedade Paraná em laboratório. Portanto, sugere-se que não existe efeito negativo da soja transgênica tolerante ao glifosato em relação a duração de ovo-larva, pupa e ovo-adulto de *M. anticarsiae* sendo que foi determinado por Patel e Habib (1991) que não houve diferenças na duração do período larval de *M. anticarsiae* parasitando lagartas de *A. gemmatalis* de primeiro, segundo, terceiro e quarto ínstar.

Alguns estudos têm demonstrado que a transgenia pode não ter efeitos na duração do tempo de desenvolvimento dos parasitoides, porém pode reduzir a emergência dos adultos como demonstrado por Pessoa, Rossi e Busoli (2016) quando *Encarsia desantisi* Viggiani, 1985 (Hymenoptera: Aphelinidae) parasita *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) alimentada com algodão transgênico Bt. No caso do estudo, a porcentagem média de emergência de adultos de *M. anticarsiae* em lagartas de *A.*

gemmatalis alimentadas com soja tolerante ao glifosato foi 87,67%, essa porcentagem de emergência é boa considerando que poucos parasitoides da Família Ichneumonidae têm tido sucesso na criação massal em laboratório.

A razão sexual de *M. anticarsiae* parasitando lagartas de *A. gemmatalis* de primeiro ínstar alimentadas com soja tolerante ao glifosato produziu mais fêmeas do que machos. Em contraste, (PATEL; HABIB, 1993) encontraram *M. anticarsiae* produziu mais machos do que fêmeas em lagartas de *A. gemmatalis* de primeiro ínstar alimentadas com soja convencional. Essas diferenças sugerem possíveis mudanças no comportamento do parasitoide devido à alimentação do hospedeiro com soja transgênica.

No estudo, as fêmeas de *M. anticarsiae* somente foram colocadas a parasitar lagartas de *A. gemmatalis* de primeiro ínstar, de acordo com resultados prévios obtidos em campo e laboratório. Em estudos similares desenvolvidos por Murillo, Hunt e Vanlaerhoven (2012) e Nofemela e Kfir (2008) com outras espécies de ichneumonídeos foram encontrados que lagartas de segundo ínstar de *Trichoplusia ni* (Hübner, 1803) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) representam o ínstar mais favorável para o desenvolvimento de *Campoletis sonorensis* (Cameron, 1886) e *Diadegma mollipla* Holmgren, 1868, respectivamente. Além disso, de acordo com Hatem, Shawer e Vargas-Osuna (2016), lagartas de segundo ínstar de *Spodoptera littoralis* (Boisduval, 1833) (Lepidoptera: Noctuidae) demonstraram ser adequadas para a criação massal de *Hyposoter didymator* (Thunberg, 1822) (Hymenoptera: Ichneumonidae). Por tanto, existe suficiente evidencia na literatura científica que indica que as espécies de Ichneumonidae se desenvolvem favoravelmente parasitando ínstars pequenos (primeiro e segundo) de seus hospedeiros.

Por outro lado, os resultados do trabalho demonstram que a duração de ovo-larva e ovo-adulto de *M. anticarsiae* foi mais curto em fêmeas do que em machos. Portanto, sugere-se que as fêmeas emergem antes do que os machos como um mecanismo de evitar a endogamia, sendo que os machos, logo após a emergência, estão prontos para o acasalamento, enquanto as fêmeas precisam de um tempo maior (8-14 dias).

De acordo com Quicke (2014), este tipo de comportamento, provavelmente, permite a dispersão das vespas do parasitoide após a emergência e evita o acasalamento de parentes próximos. Em contraste, Khatri, He e Wang (2009) encontraram que para a espécie *Diadegma semiclausum* (Hellen, 1949) (Hymenoptera: Ichneumonidae), a fêmea está pronta para o acasalamento, aproximadamente, a partir de seis horas após a emergência. Portanto, esses estudos indicam que para o caso dos ichneumonídeos o comportamento de acasalamento pode variar grandemente entre as espécies.

4.2. Experimento 2: Efeito da soja transgênica na longevidade de *Microcharops anticarsiae*

Diversos estudos têm demonstrado o efeito indireto das plantas transgênicas Bt nos parâmetros biológicos dos parasitoides de lagartas desfolhadoras. Por exemplo, Ramirez-Romero et al. (2007) demonstraram que os parâmetros duração de ovo a pupa, ovo a adulto e tamanho do adulto de *Cotesia marginiventris* (Cresson, 1865) (Hymenoptera: Braconidae) parasitando lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) alimentadas com folhas de milho Bt foram afetados negativamente quando comparadas com milho não Bt. Também, Sanders et al. (2007) demonstraram que adultos de *Campoletis sonorensis* (Cameron, 1886) (Hymenoptera: Ichneumonidae) parasitando lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com milho Bt foram 15 – 30% menores do que em lagartas alimentadas com milho convencional.

Os resultados do presente trabalho demonstram que o parâmetro biológico longevidade total de adultos de *M. anticarsiae* foi afetado negativamente pela soja resistente a insetos (Figura 3). Além disso, o trabalho demonstra que a longevidade das fêmeas de *M. anticarsiae* foi afetada positivamente pela soja tolerante ao glifosato e que a longevidade dos machos foi afetada negativamente pela soja tolerante ao glifosato e resistente a insetos.

De acordo com os resultados, especula-se que o efeito negativo da soja transgênica resistente a insetos seja devido a secreções que a folha de soja libera e que o parasitoide ingere. Porém, estudos mais detalhados e direcionados a determinar

o efeito direto da soja transgênica na longevidade dos parasitoides devem ser realizados.

De maneira geral, conclui-se que os parâmetros duração de ovo-larva, pupa e ovo-adulto não foram afetados pela criação sucessiva de *M. anticarsiae* durante três gerações e que existe efeito direto negativo das folhas de soja resistente a insetos na longevidade de machos de *M. anticarsiae* e existe efeito direto positivo das folhas de soja tolerante ao glifosato na longevidade das fêmeas do parasitoide.

5. REFERÊNCIAS

BOTELHO, P. S. M.; MACEDO, N. *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*. In: PARRA, J. R. P., BOTELHO, P. S. M., CORRÊA-FERREIRA, B. S., BENTO, J. M. S. (Eds.) **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo, Manole, 2002. cap. 5, p.409-421.

DEAN, J. M.; de MORAES, C. M. Effects of genetic modification on herbivore-induced volatiles from maize. **Journal of Chemical Ecology**, v. 32, n. 4, p. 713–724, 2006.

DINARDO-MIRANDA, L. L. Pragas. In: DINARDO-MIRANDA, L. L.; VASCONCELOS, A. C. M.; LANDELL, M. G. A. (Eds.). **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agronômico, 2008. p. 349-404.

HATEM, A. E.; SHAWER, D. M.; VARGAS-OSUNA, E. Parasitism and optimization of *Hyposoter didymator* (Hymenoptera: Ichneumonidae) rearing on *Spodoptera littoralis* and *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 109, n. 3, p. 1058–1063, 2016.

KHATRI, D.; HE, X. Z.; WANG, Q. Mating behaviour and egg maturation in *Diadegma semiclausum* Hellen (Hymenoptera: Ichneumonidae). **New Zealand Plant Protection**, v. 62, p. 174–178, 2009.

LIU, Q.; ROMEIS, J.; YU, H.; ZHANG, Y.; LI, Y.; PENG, Y. Bt rice does not disrupt the host-searching behavior of the parasitoid *Cotesia chilonis*. **Scientific Reports**, v. 5, p. 15295, 2015.

MOSCARDI, F.; BUENO, A. D. F.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; ROGGIA, S.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; POMARI, A. F., YANO, S. A. C. Artrópodes que atacam as folhas da soja. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (Eds.). **Soja: Manejo Integrado de Insetos e outros Artrópodes-Praga**. Brasília: Embrapa Soja, 2012. p. 860.

MURILLO, H.; HUNT, D. W. A.; VANLAERHOVEN, S. L. Fecundity and life table parameters of *Campoletis sonorensis* (Hymenoptera: Ichneumonidae), an endoparasitoid of the Cabbage Looper *Trichoplusia ni* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), under laboratory conditions. **Biocontrol Science and Technology**, v. 22, n. 2, p. 125–134, 2012.

NOFEMELA, R. S.; KFIR, R. *Diadegma mollipla* parasitizing *Plutella xylostella*: Host instar preference and suitability. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 126, n. 1, p. 9–17, 2008.

PATEL, P. N. **Flutuação populacional de insetos fitófagos e agentes de controle natural de *Anticarsia gemmatilis* Hueb., 1818 e *Pseudoplusia includens* (Walk., 1857) em soja consorciada e não consorciada e bioecologia de seu endoparasito, *Microcharops anticarsiae* Gupta, 1987 (Hymenoptera: Ichneumonidae) em laboratório.** 1991. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 1991.

PATEL, P. N.; HABIB, M. E. M. *Microcharops anticarsiae* (Hym.: Ichneumonidae) parasitoid of *Anticarsia gemmatilis* (Lep.: Noctuidae): Host age preference, sex ratio effects and functional response. **Entomophaga**, v. 38, n. 4, p. 511–517, 1993.

PATEL, P. N.; HABIB, M. E. M. Development of *Microcharops anticarsiae* Gupta (Hym., Ichneumonidae), an endoparasitoid of the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatilis* (Lep., Noctuidae) and morphology of its immature stages. **Journal of Applied Entomology**, v. 122, n. 7, p. 369–373, 1998.

PESSOA, R.; ROSSI, G. D.; BUSOLI, A. C. Transgenic Cotton-Fed *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) affects the parasitoid *Encarsia desantisi* Viggiani (Hymenoptera: Aphelinidae) development. **Neotropical Entomology**, v. 45, n. 1, p. 102–106, 2016.

QUICKE, D. L. J. Sex, Courtship and Mating. In: _____ (Ed.). **The Braconid and Ichneumonid Parasitoid Wasps: Biology, Systematics, Evolution and Ecology.** Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, cap. 7, 2014. p. 107–126.

RAMIREZ-ROMERO, R.; BERNAL, J. S.; CHAUFAX, J.; KAISER, L. Impact assessment of Bt-maize on a moth parasitoid, *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae), via host exposure to purified Cry1Ab protein or Bt-plants. **Crop Protection**, v. 26, n. 7, p. 953–962, 2007.

SANDERS, C. J.; PELL, J. K.; POPPY, G. M.; RAYBOULD, A.; GARCIA-ALONSO, M.; SCHULER, T. H. Host-plant mediated effects of transgenic maize on the insect parasitoid *Campoletis sonorensis* (Hymenoptera: Ichneumonidae). **Biological Control**, v. 40, n. 3, p. 362–369, 2007.

SOSA-GÓMEZ, D. R. Intraspecific variation and population structure of the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818 (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 27, n. 3, p. 378–384, 2004.

CAPÍTULO 4 – Implicações finais

O conhecimento do comportamento de parasitismo de *Microcharops anticarsiae* Gupta, 1987 (Hymenoptera: Ichneumonidae) sobre lagartas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Erebidæ) em condições de campo e os aspectos biológicos em condições de laboratório, bem como o possível efeito das cultivares de soja transgênica (tolerante ao herbicida glifosato e resistente a insetos) sob os parâmetros biológicos do parasitoide são informações necessárias porque o uso de soja tolerante a herbicidas e resistente a insetos atualmente representam o 96,5% da área total de soja no Brasil e poucos estudos têm sido relatados com lagartas e parasitoides em soja transgênica, principalmente, com lagartas sobreviventes à tecnologia Bt.

Os dados obtidos nesta pesquisa permitem direcionar a realização de novos estudos com *M. anticarsiae* e outras espécies de parasitoides com potencial para o controle biológico lagartas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner 1818 (Lepidoptera: Erebidæ) e/ou outras espécies de importância econômica como *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidæ) e *Spodoptera eridania* (Cramer, 1784) (Lepidoptera: Noctuidæ) que tem atingido o status de praga chave em algumas regiões produtoras de soja no Brasil.

Os resultados são justificáveis quando se observa que sob condições de campo com soja tolerante ao glifosato, o parasitismo natural de lagartas de *A. gemmatalis* varia entre 49,73% e 78,60%, e que o parasitismo natural de *M. anticarsiae* varia entre 12% e 31,98% sendo que o parasitismo por *M. anticarsiae* ocorre maiormente em lagartas de *A. gemmatalis* de primeiro ínstar. Portanto, esses resultados foram o ponto de partida para a realização do estudo sobre os aspectos biológicos de *M. anticarsiae* em condições de laboratório.

O conjunto de informações obtidas nas pesquisas em laboratório indicam que podem ser realizadas criações de *M. anticarsiae* por três gerações sem apresentar diferenças nos parâmetros biológicos do parasitoide. Porém, ainda não está claro como as cultivares de soja tolerante ao glifosato e resistente a insetos afetam o comportamento e a longevidade de adultos de *M. anticarsiae* em campo e laboratório.

O trabalho elucida a importância do estudo do parasitismo natural sob condições de campo e os aspectos biológicos sob condições de laboratório, proporcionando informações estratégicas para o planejamento de metodologias de criação massal desse ou outros parasitoides que sejam considerados agentes potenciais de controle biológico das pragas que ocorrem nas principais culturas no Brasil.

Finalmente, o mercado de agentes de controle biológico para programas de controle biológico aplicado deve registrar crescimento entre 15% a 20% no Brasil nos próximos anos segundo a Associação Brasileira das Empresas de Controle Biológico, situação que indica que haverá grandes oportunidades para a implementação de programas de controle biológico com parasitoides, como exemplo *M. anticarsiae*.