

CAROLANE BENJAMIN DA SILVA

**PRODUÇÃO DE *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera:
Trichogrammatidae) EM HOSPEDEIROS ALTERNATIVOS E INTERAÇÃO
COM *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae) NO PARASITISMO
DOS OVOS DE *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)**

Botucatu

2023

CAROLANE BENJAMIN DA SILVA

**PRODUÇÃO DE *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae)
EM HOSPEDEIROS ALTERNATIVOS E INTERAÇÃO COM *Telenomus remus*
(Hymenoptera: Scelionidae) NO PARASITISMO DOS OVOS DE *Spodoptera
frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)**

Tese apresentada a Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus
de Botucatu, para obtenção do título de
Doutora em Agronomia (Proteção de
Plantas).

Orientadora: Profa. Dra. Regiane Cristina
de Oliveira

Botucatu

2023

S586p

Silva, Carolane Benjamin da

Produção de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em hospedeiros alternativos e interação com *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae) no parasitismo dos ovos de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) / Carolane Benjamin da Silva. -- Botucatu, 2023

92 p. : tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu

Orientadora: Regiane Cristina de Oliveira

1. controle biológico. 2. parasitoides. 3. hospedeiros alternativos. 4. competição interespecífica. 5. coexistência. I. Título.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título:

PRODUÇÃO DE *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) EM HOSPEDEIROS ALTERNATIVOS E INTERAÇÃO COM *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae) NO PARASITISMO DOS OVOS DE *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)

AUTORA: CAROLANE BENJAMIN DA SILVA

ORIENTADORA: REGIANE CRISTINA DE OLIVEIRA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Agronomia (Proteção de Plantas), pela Comissão Examinadora:

Prof.^a Dr.^a REGIANE CRISTINA DE OLIVEIRA (Participação Presencial)
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrômicas UNESP

Prof.^a Dr.^a CAROLINA REIGADA MONTOYA (Participação Virtual)
Ecologia e Biologia Evolutiva / Universidade Federal de São Carlos

Prof. Dr. BRUNO ZACHÉ (Participação Virtual)
/ Universidade Federal Rural da Amazônia

Prof. Dr. CARLOS FREDERICO WILCKEN (Participação Presencial)
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrômicas de Botucatu UNESP

Assistente Técnico de Pesquisa JOÃO PEDRO DE ANDRADE BOMFIM (Participação Presencial)
Pesquisa e Desenvolvimento / DestakRH

Botucatu, 28 de fevereiro de 2023.

*Àos meus amados pais,
Roberto Carlos e Perina,
dedico*

AGRADECIMENTOS

À Deus por sua graça e misericórdia em meios as dificuldades.

À minha família, em especial meus pais, Roberto Carlos e Perina Rodrigues, pelo incentivo, suporte e principalmente por me ajudar a realizar os meus sonhos.

A meu marido, José Augusto, pelo companheirismo, incentivo, orações e compreensão.

À minha orientadora, Profa. Dra. Regiane Cristina de Oliveira, pela orientação, ensinamentos, paciência e oportunidade de fazer parte do AGRIMIP durante esses últimos 5 anos.

A todos do Grupo de Pesquisa em Manejo Integrado de Pragas na Agricultura (AGRIMIP), pela amizade, conversas e troca de conhecimento.

A todos os estagiários do AGRIMIP que me ajudaram na execução do meu projeto de pesquisa.

À minha amiga, Nadja Nara, pela amizade, conselhos e colaboração nos experimentos e identificação da espécie de parasitoide coletada em campo.

À minha amiga, Thais Lohaine, pelo acolhimento, amizade, conselhos e parceria.

Ao meu amigo João Pedro pelas conversas, vivências e histórias compartilhadas.

Ao meu amigo Leonardo Libardi pela amizade, conversas, colaboração e incentivo.

A todos os amigos e colegas do Programa de Pós-graduação em (Agronomia) Proteção de Plantas, em especial, Thais Cirino, Daniel Alvarez e Aixelhe Damascena.

À FCA/UNESP, em especial o Programa de Pós-graduação em Agronomia (Proteção de Plantas) pela oportunidade de desenvolvimento profissional.

À profa Dra. Renate Krause Sakate pela empatia e suporte.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Proteção de Plantas.

A todos os funcionários do departamento de Proteção Vegetal da FCA/UNESP.

Ao prof. Dr. Carlos Frederico Wilcken, pela oportunidade de estágio no LCBPF a muitos anos atrás, foi uma oportunidade muito significativa para minha vida e decisão de estar na pós-graduação.

Ao Prof. Dr. Bruno Zaché, por ter aberto tantas portas durante minha graduação, para eu poder iniciar minha caminhada na área de Entomologia.

Sou grata não somente aqueles que estiveram comigo durante o doutorado, mas a todos que estiveram em toda minha trajetória profissional e que de alguma forma contribuíram na formação da pessoa e profissional que me tornei.

Obrigada a todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização desse trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

Telenomus remus Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) são parasitoides de ovos promissores para o manejo de *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae). Nessa tese objetivamos avaliar a interação simultânea e sequencial de *T. remus* em liberações combinadas com *T. pretiosum* visando entender essa relação de coexistência e aplicar ao controle de *S. frugiperda* na cultura do milho. Para isso, esse estudo foi dividido em quatro objetivos específicos: 1) selecionar e caracterizar espécies/linhagens de parasitoides de ovos associados a *S. frugiperda*; 2) testar o efeito de diferentes dietas na biologia do hospedeiro alternativo *Corcyra cephalonica* Stainton (Lepidoptera: Pyralidae) e no parasitismo de parasitoides de ovos de *S. frugiperda*; 3) estudar o efeito da interação interespecífica de *T. pretiosum* com diferentes linhagens de *T. remus* em parasitismo simultâneo e parasitismo sequencial; 4) determinar a dose de liberação combinada de *T. pretiosum* e *T. remus* em milho, em condições de laboratório e semi-campo. Uma linhagem de *T. pretiosum* coletada a campo foi multiplicada e utilizada em experimentos para testar a capacidade de parasitismo em ovos de hospedeiros alternativos (*Corcyra cephalonica* e *Anagasta kuehniella*) e hospedeiro natural (*S. frugiperda*) em temperaturas de 15, 18, 21, 24, 27, 30 e 33°C, cada tratamento com 20 repetições. Posteriormente, para otimizar a criação no hospedeiro *C. cephalonica* foram desenvolvidas sete dietas e testadas quanto a alteração dos parâmetros biológicos neste hospedeiro e no parasitismo e razão sexual de *T. pretiosum*. Para avaliar a interação entre *T. remus* e *T. pretiosum* foram realizados experimentos de liberação simultânea e sequencial das duas espécies em laboratório e liberações conjuntas em condições de semi-campo. O parasitismo e emergência de *T. pretiosum* é influenciado pela temperatura. Dietas contendo germe de trigo torrado, levedo de cerveja e/ou amendoim triturado tiveram maior quantidade de fêmeas emergidas. Quanto à interação de *T. pretiosum* e *T. remus* os parasitoides liberados simultaneamente tiveram maior taxa de parasitismo e emergência.

Palavras-chave: controle biológico; parasitoides; hospedeiros alternativos; competição interespecífica; *Zea mays*.

ABSTRACT

Telenomus remus Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) and *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) are promising egg parasitoids for the management of *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae). In this thesis, we aimed to evaluate the simultaneous and sequential interaction of *T. remus* in combined releases with *T. pretiosum* in order to understand this coexistence relationship and apply it to the control of *S. frugiperda* in corn. For this, this study was divided into four specific objectives: 1) to select and characterize species/strains of egg parasitoids associated with *S. frugiperda*; 2) test the effect of different diets on the biology of the alternative host *Corcyra cephalonica* Stainton (Lepidoptera: Pyralidae) and on the parasitism of *S. frugiperda* egg parasitoids; 3) to study the effect of the interspecific interaction of *T. pretiosum* with different *T. remus* strains in simultaneous and sequential parasitism; 4) determine the combined release dose of *T. pretiosum* and *T. remus* in maize, under laboratory and semi-field conditions. A strain of *T. pretiosum* collected in the field was multiplied and used in experiments to test the ability of parasitism in eggs of alternative hosts (*Corcyra cephalonica* and *Anagasta kuehniella*) and natural host (*S. frugiperda*) at temperatures of 15, 18, 21, 24, 27, 30 and 33°C, each treatment with 20 replications. Subsequently, in order to optimize rearing in the *C. cephalonica* host, seven diets were developed and tested for changes in the biological parameters in this host and in the parasitism and sex ratio of *T. pretiosum*. To evaluate the interaction between *T. remus* and *T. pretiosum*, experiments were carried out with simultaneous and sequential release of both species in the laboratory and joint releases under semi-field conditions. Parasitism and emergence of *T. pretiosum* is influenced by temperature. Diets containing wheat, yeast and/or peanuts had a higher number of females emerged. As for the interaction of *T. pretiosum* and *T. remus*, the parasitoids released simultaneously had a higher rate of parasitism and emergence.

Key words: biological control; parasitoids; alternative hosts; interspecific interaction; *Zea mays*.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	17
CAPÍTULO 1 – CAPACIDADE DE PARASITISMO DE <i>Trichogramma pretiosum</i> (Hymenoptera: Trichogrammatidae) EM OVOS DE <i>Anagasta kuehniella</i> Zeller, <i>Corcyra cephalonica</i> Stainton (Lepidoptera: Pyralidae) e <i>Spodoptera frugiperda</i> J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae).....	20
1.1 INTRODUÇÃO.....	22
1.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	23
1.2.1 ÁREA EXPERIMENTAL.....	23
1.2.2 COLETA DE PARASITOIDES.....	23
1.2.3 CAPACIDADE DE PARASITISMO EM DIFERENTES HOSPEDEIROS.....	24
1.2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	25
1.3 RESULTADOS.....	25
1.3.1 COLETA DE PARASITOIDES.....	25
1.3.2 CAPACIDADE DE PARASITISMO, PROBABILIDADE DE SOBREVIVÊNCIA E LONGEVIDADE DE <i>Trichogramma pretiosum</i> EM OVOS DE <i>Anagasta kuehniella</i>	26
1.3.3 CAPACIDADE DE PARASITISMO, PROBABILIDADE DE SOBREVIVÊNCIA E LONGEVIDADE DE FÊMEAS DE <i>Trichogramma pretiosum</i> EM OVOS DE <i>Corcyra cephalonica</i>	29
1.3.4 CAPACIDADE DE PARASITISMO, PROBABILIDADE DE SOBREVIVÊNCIA E LONGEVIDADE DE FÊMEAS DE <i>Trichogramma pretiosum</i> EM OVOS DE <i>Spodoptera frugiperda</i>	33
1.4 DISCUSSÃO.....	38
REFERÊNCIAS.....	40
CAPÍTULO 2 - INFLUÊNCIA DE DIFERENTES DIETAS NOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE <i>Corcyra cephalonica</i> Stainton (Lepidoptera: Pyralidae) E NO PARASITISMO DE <i>Trichogramma pretiosum</i> Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae).....	42
2.1 INTRODUÇÃO.....	44
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	45
2.2.1 ÁREA EXPERIMENTAL.....	45
2.2.1 EFEITO DE DIFERENTES DIETAS NOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE <i>Corcyra cephalonica</i>	45
2.2.1 PARASITISMO DE <i>Trichogramma pretiosum</i>	46

2.3	RESULTADOS.....	47
2.3.1	EFEITO DE DIFERENTES DIETAS NOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE <i>Corcyra cephalonica</i>	47
2.3.2	PARASITISMO DE <i>Trichogramma pretiosum</i>	50
2.4	DISCUSSÃO.....	50
	REFERÊNCIAS.....	52
	CAPÍTULO 3 - EFEITO DA INTERAÇÃO DE <i>Telenomus remus</i> Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) E <i>Trichogramma pretiosum</i> Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) NO PARASITISMO DE OVOS DE <i>Spodoptera frugiperda</i> J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae).....	55
3.1	INTRODUÇÃO.....	57
3.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	58
3.2.1	SISTEMA DE CRIAÇÃO DOS INSETOS.	58
3.2.2	COMPETIÇÃO INTERESPECÍFICA ENTRE <i>T. remus</i> e <i>T. pretiosum</i> NO PARASITISMO DE OVOS DE <i>S. frugiperda</i> , EM DIFERENTES INTERVALOS DE TEMPO.....	59
3.2.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	61
3.3	RESULTADOS.....	61
3.4	DISCUSSÃO.....	68
	REFERÊNCIAS.....	69
	CAPÍTULO 4 - LIBERAÇÃO COMBINADA DE <i>Trichogramma pretiosum</i> Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) E <i>Telenomus remus</i> Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO E SEMI-CAMPO.....	73
4.1	INTRODUÇÃO.....	75
4.2	MATERIAL E MÉTODOS....	76
4.2.1	ÁREA EXPERIMENTAL.....	76
4.2.2	SISTEMA DE CRIAÇÃO DOS INSETOS.....	76
4.2.3	LIBERAÇÃO COMBINADA DE <i>Trichogramma pretiosum</i> E <i>Telenomus remus</i> , EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO.....	77
4.2.4	LIBERAÇÃO COMBINADA DE <i>Trichogramma pretiosum</i> E <i>Telenomus remus</i> , EM CONDIÇÕES DE SEMI-CAMPO.....	79
4.2.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	80
4.3	RESULTADOS.....	80
4.3.1	LIBERAÇÃO COMBINADA DE <i>Trichogramma pretiosum</i> E <i>Telenomus remus</i> , EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO.....	80
4.3.2	LIBERAÇÃO COMBINADA DE <i>Trichogramma pretiosum</i> E <i>Telenomus remus</i> , EM CONDIÇÕES DE SEMI-CAMPO.....	82

4.4	DISCUSSÃO.....	85
	REFERÊNCIAS.....	87
	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	89
	REFERÊNCIAS.....	91

INTRODUÇÃO GERAL

Spodoptera frugiperda J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae) é um lepidóptero-praga que causa danos em diversos cultivos. Pode se alimentar de mais de 350 plantas, dentre elas, plantas espontâneas e cultivadas. Apesar de tantos hospedeiros favoráveis ao desenvolvimento de *S. frugiperda*, a praga tem preferência e desenvolve-se melhor em plantas de milho (VANDENBERG; BREWER; REISING, 2022) ao qual ocasiona danos em todo o ciclo de cultivo (DAY et al., 2017; KUMELA et al., 2018), podendo danificar as folhas, caules e espigas. Quando nas folhas, e com danos de moderados, a planta consegue se recuperar. No entanto, quando os danos atingem a espiga, podem causar severos prejuízos. Devido a isso, é de suma importância o desenvolvimento de táticas de manejo que atuem efetivamente no controle deste inseto-praga. As principais táticas utilizadas são uso de plantas geneticamente modificadas (OGMs) que expressam proteínas inseticidas derivadas da bactéria *Bacillus thuringiensis* e/ou táticas mais emergenciais de uso de inseticidas sintéticos (ISAAA, 2018). No entanto, a busca de outras táticas de manejo tem sido estudada e vista como alternativa viável para mitigar a ocorrência de *S. frugiperda* em campo.

Uma tática de manejo que vem sendo bastante difundida é o controle biológico aplicado através da utilização de parasitoides de ovos. A seleção de espécies/linhagens de parasitoides consiste na primeira etapa rumo a implementação de um programa de controle biológico (HASSAN, 1997). Com isso, é crucial fazer a escolha de uma espécie/linhagem que seja adaptada as condições climáticas e condições de cultivo da região em que será utilizada.

Existem muitas espécies de parasitoides e outros inimigos naturais associados a *S. frugiperda*. Parasitoides de ovos do gênero *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e a espécie *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae) são parasitoides promissores para o uso em programas de controle biológico para manejo de *S. frugiperda* (POMARI et al., 2015; FIGUEIREDO et al., 2015, KENIS et al., 2022; PARRA; COELHO, 2022).

As espécies do gênero *Trichogramma* são as mais estudadas e utilizadas no mundo, principalmente pela ampla ocorrência e facilidade de criação em hospedeiros alternativos (PARRA et al., 2002). A espécie *Trichogramma atopovirilia* parasita principalmente ovos de *S. frugiperda*, e tem maior capacidade de

parasitismo dentre as espécies de *Trichogramma*, neste hospedeiro (BESERRA; PARRA, 2004), mas não é de grande ocorrência em campo. Com isso, atualmente a espécie que é comercializada e possui como alvo biológico *S. frugiperda* é o *T. pretiosum*. Esse parasitoide de ovos, é uma espécie generalista, de grande ocorrência em campo e pode ser utilizado em diferentes cultivos para atuar no controle de outros lepidópteros-praga, como, por exemplo, no controle de *Anticarsia gemmatalis* (Lagarta da soja), *Helicoverpa zea* (Lagarta da espiga do milho), *Pseudoplusia includens* (Lagarta-falsa-medideira) e *Tuta absoluta* (Traça do tomateiro).

No entanto, para a utilização no controle de *S. frugiperda* ambos possuem limitações relacionadas as camadas de ovos sobrepostas (BESERRA; PARRA, 2005). Mediante isso, a utilização de *T. remus* é mais efetiva para o controle das espécies do complexo *Spodoptera*, pois este parasitoide tem grande capacidade reprodutiva e, principalmente, capacidade de parasitar as camadas sobrepostas das massas de ovos (CARNEIRO; FERNANDES, 2012; POMARI et al., 2012; DONG et al., 2021). Porém, a criação desse parasitoide ainda é um desafio, devido à produção massal em hospedeiro natural ser economicamente inviável. Com isso, os estudos mais recentes buscam estabelecer a criação desse parasitoide em ovos de hospedeiros alternativos, como *Corcyra cephalonica* Stainton (Lepidoptera: Pyralidae) (POMARI et al., 2013; QUEIROZ et al., 2017; SILVA et al., 2022). No entanto, ainda é necessário ajustar dietas que possibilitem melhores condições nutricionais para *T. remus* (BERNARDI; HADDAD; PARRA et al., 2000; BHANDARI; REGMI; SHRESTHA, 2014; KUMAR et al., 2018).

Aliado a isso, a utilização de *T. remus* com *T. pretiosum* em liberações combinadas é uma estratégia de manejo eficaz devido estas espécies serem coexistentes no ambiente, podendo até mesmo parasitar a mesma massa de ovos (SILVA et al., 2015). Porém, quando dois parasitoides exploram o mesmo hospedeiro, pode existir competição interespecífica que pode ter efeito no parasitismo e na permanência dessas espécies na área (WAAGE; HASSELL, 1982). Por isso, é necessário entender a relação de interação entre esses parasitoides e avaliar o impacto dessa relação no controle de *S. frugiperda* na cultura do milho.

Com base nisso, o presente estudo teve por objetivo avaliar o uso de *T. pretiosum* em liberações combinadas com *T. remus* visando o controle de *S. frugiperda* na cultura do milho. Esse estudo foi dividido em quatro objetivos

específicos: 1) selecionar e caracterizar espécies/linhagens de parasitoides de ovos associados a *S. frugiperda*. 2) testar o efeito de diferentes dietas na biologia do hospedeiro alternativo *C. cephalonica* e no parasitismo de parasitoides de ovos de *S. frugiperda*. 3) estudar o efeito da interação interespecífica de *T. pretiosum* com diferentes linhagens de *T. remus* em parasitismo simultâneo e parasitismo sequencial. 4) determinar a dose de liberação combinada de *T. pretiosum* e *T. remus* em milho, em condições de laboratório e semi-campo.

CAPÍTULO 1

CAPACIDADE DE PARASITISMO DE *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) EM OVOS DE *Anagasta kuehniella* Zeller, *Corcyra cephalonica* Stainton (Lepidoptera: Pyralidae) e *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae)
Carolane Benjamin da Silva; Regiane Cristina de Oliveira.

RESUMO

A seleção de espécies/ linhagens de parasitoides é extremamente importante para a implementação de programas de controle biológico. Esse estudo teve como objetivo coletar espécies/linhagens de parasitoides de ovos associados a cultura do milho, e posteriormente, determinar a capacidade de parasitismo em diferentes temperaturas e hospedeiros, visando a utilização dessas espécies em programas de controle biológico de *Spodoptera frugiperda*. A coleta de parasitoides foi feita através da instalação de armadilhas-sentinela com massa de ovos de *S. frugiperda* e coleta de ovos de lepidópteros de ocorrência natural, em cultivo de milho. Foi coletado uma linhagem de *Trichogramma pretiosum* e essa população foi avaliada quanto a capacidade de parasitismo, probabilidade de sobrevivência e longevidade em ovos de *Anagasta kuehniella*, *Corcyra cephalonica* e *S. frugiperda* em temperaturas de 15, 18, 21, 24, 27, 30 e 33°C. Fêmeas de *T. pretiosum* tem maior média de parasitismo quando em ovos de *A. kuehniella* em temperaturas de 24 e 27°C. Temperaturas mais altas, 30 e 33°C ocasionaram menor média de parasitismo, probabilidade de sobrevivência e longevidade em todos os hospedeiros. *S. frugiperda* foi o hospedeiro com menor número de ovos parasitados, probabilidade de sobrevivência e longevidade de *T. pretiosum*. O hospedeiro mais apto para criação dessa linhagem de *T. pretiosum* é *A. kuehniella* em temperatura de 24 a 27°C. Esse estudo reforça a importância de avaliar a aptidão de parasitoides de *T. pretiosum* em diferentes hospedeiros.

Palavras-chave: controle biológico; criação massal; parasitoides.

ABSTRACT

The selection of parasitoid species/lineages is extremely important for the implementation of biological control programs. This study aimed to collect species/strains of egg parasitoids associated with maize culture, and subsequently characterize the capacity for parasitism at different temperatures and hosts, with a view to using these species in biological control programs for *Spodoptera frugiperda*. The collection of parasitoids was performed by installing sentinel traps with *S. frugiperda* egg mass and collecting naturally occurring lepidopteran eggs in maize cultivation. A strain of *Trichogramma pretiosum* was collected and this population was evaluated for parasitism capacity, probability of survival and longevity in eggs of *Anagasta kuehniella*, *Corcyra cephalonica* and *S. frugiperda* at temperatures of 15, 18, 21, 24, 27, 30 and 33°C. Females of *T. pretiosum* have a higher average of parasitism when on *A. kuehniella* eggs at temperatures of 24 and 27°C. Higher temperatures, 30 and 33°C, had a lower average of parasitism, probability of survival and longevity in all hosts. *S. frugiperda* was the host with the lowest number of parasitized eggs, probability of survival and longevity of *T. pretiosum*. The most suitable host for rearing this *T. pretiosum* strain is *A. kuehniella* at a temperature of 24 to 27°C. This study reinforces the importance of evaluating the aptitude of *T. pretiosum* parasitoids in different hosts.

Keywords: biological control; mass rearing; parasitoids.

1.1 INTRODUÇÃO

Muitos parasitoides são estudados em todo o mundo a fim de fundamentar programas de controle biológico para manejo de diversos insetos-praga, como por exemplo, *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae). Conhecida como lagarta-do-cartucho, *S. frugiperda*, é um lepidóptero-praga polífago, de alta mobilidade e dispersão, alto nível reprodutivo e de adaptabilidade a diferentes agroecossistemas (MONTEZANO et al., 2018; KENIS et al., 2022). Pode ser hospedeiro de plantas espontâneas e de importância econômica, sendo mais comum em plantas da família botânica Poaceae, principalmente milho (*Zea mays* L.) (MONTEZANO et al., 2018; INGBER et al. 2021).

As táticas de manejo mais utilizada para controle de *S. frugiperda* é o uso de plantas geneticamente modificadas que expressam proteínas *Bt* e o controle químico com inseticidas sintéticos. No entanto, já existem relatos de *S. frugiperda* resistentes a alguns eventos que expressam proteínas *Bt* (OMOTO et al., 2016; BOTHHA et al., 2019). O uso de controle químico quando usado de forma frequente ou errônea pode ser ineficiente e outros problemas decorrentes ao uso desse método de controle é o aparecimento de populações resistentes aos principais ingredientes ativos utilizados. Com isso, pesquisas sobre novas táticas de manejo para mitigar *S. frugiperda* de forma eficiente e mais sustentável tem sido crescente.

O controle biológico aumentativo com uso de parasitoides de ovos tem sido uma das táticas estudadas. Existem mais de 150 inimigos naturais associados ao controle de *S. frugiperda* (MOLINA-OCHOA et al., 2003), dentre eles, os parasitoides de ovos são potenciais agentes de controle biológico, destacando-se: *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *T. remus* é o parasitoide mais promissor no controle de *S. frugiperda* pela eficiência de parasitismo e capacidade de parasitar massas de ovos sobrepostas (DONG et al., 2021; SILVA et al., 2022), no entanto, ainda não é produzido em escala comercial. *T. pretiosum* é um parasitoide produzido comercialmente e utilizado no manejo de diversos lepidópteros-praga (OLIVEIRA et al., 2019; PINTO; FERNANDES, 2020; TEPA-YOTTO et al., 2021). Ambos têm registro de ocorrência natural em campo e podem parasitar a mesma massa de ovos de *S. frugiperda* (SILVA et al., 2015; WENGRAT et al., 2021).

No entanto, para implementar um programa de controle biológico o primeiro passo consiste em fazer a seleção de espécies de parasitoides em campo (HASSAN, 1997). Essa etapa é importante seja para seleção de novas espécies de parasitoides ou para rejuvenescer populações de parasitoides que perderam variabilidade genética pela criação sucessiva em condições de laboratório (GHAEMMAGHAMI et al., 2021). Outro passo importante é determinar as características do parasitoide quanto ao parasitismo, preferência hospedeira e condições de adaptabilidade climática para determinar as melhores condições para produção massal e posteriormente traçar melhores táticas para liberação em campo. Com base nisso, esse trabalho teve como objetivo fazer a coleta de espécies/linhagens de parasitoides de ovos na cultura do milho, e posteriormente fazer a caracterização da capacidade de parasitismo em diferentes temperaturas e hospedeiros (*Spodoptera frugiperda*, *Anagasta kuehniella* e *Corcyra cephalonica*), visando a utilização dessas espécies em programas de controle biológico de *S. frugiperda* na cultura do milho.

1.2. MATERIAL E MÉTODOS

1.2.1. ÁREA EXPERIMENTAL

A coleta de parasitoides ocorreu em cultivo de milho Bt, na safra 2019/20, na Fazenda Experimental Lageado e as criações de insetos foram conduzidas nos laboratórios do Grupo de Manejo Integrado de Pragas – AGRIMIP, na Faculdade de Ciências Agronômicas, pertencente à Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu/SP.

1.2.2. COLETA DE PARASITOIDES

Para a realização das coletas dos parasitoides de ovos dos gêneros *Trichogramma* foram utilizadas armadilhas-sentinela contendo ovos de *S. frugiperda* provenientes da criação de laboratório. As armadilhas foram compostas por uma estaca de sinalização de experimento em campo agrícola (4mm x 1,20 m), o qual na parte superior da estaca continha um saco (6 x 6 cm) confeccionado com tecido vazado, para permitir acesso dos parasitoides aos ovos. Dentro de cada saco, era inserido uma massa de ovos de *S. frugiperda* contendo cerca de 100 ovos. No total foram utilizadas 20 armadilhas-sentinela dispostas de forma aleatória nas bordas do

cultivo de milho. Após 24h das armadilhas em campo, as posturas das armadilhas, e adicionalmente, as posturas de ocorrência natural foram recolhidas, identificadas e armazenadas em tubos de vidro (8.5×2.5cm) e mantidas em sala climatizada (25±1°C, UR 70±10% e fotofase 12h). Diariamente, as posturas foram observadas para quantificação de ovos parasitados, parasitoides emergidos e/ou retirada de lagartas de *S. frugiperda* eclodidas, para evitar danos aos ovos parasitados. O cultivo de milho escolhido para posicionamento das armadilhas, era um cultivo que estava sendo manejado conforme as exigências da cultura, com adoção de controle químico de pragas, quando necessário, e que havia histórico e estava com ocorrência de *S. frugiperda*.

Foi coletado uma linhagem de *Trichogramma* sp. na Fazenda Experimental Lageado (-22.806975 S, -48.428218° W) Botucatu/SP.

1.2.3. CAPACIDADE DE PARASITISMO EM DIFERENTES HOSPEDEIROS

Para determinar a capacidade de parasitismo da espécie coletada em campo, foram avaliadas as características biológicas em sete temperaturas (15, 18, 21, 24, 27, 30 e 33°C, umidade relativa 70±10% e fotoperíodo 14:10) com 20 repetições. Foram realizados três experimentos utilizando como hospedeiro *A. kuehniella*, *C. cephalonica* e *S. frugiperda*. Cada experimento foi montado separadamente. Porém, a metodologia empregada foi similar em todos os experimentos.

Cada repetição era constituída por uma fêmea recém-emergida e previamente acasalada. As fêmeas foram individualizadas em tubo de vidro (8,5cm×2,5Ø) fechados por filme PVC. Dentro de cada tubo de vidro foi adicionado, na lateral, uma gotícula de mel puro para alimentação das fêmeas.

Diariamente, era ofertado uma cartela (1,5×6,0cm) confeccionada com papel (couchê 180g). Para os experimentos que *A. kuehniella* e *C. cephalonica* eram os hospedeiros, cada cartela continha aproximadamente 100 ovos. Os ovos foram colados com fita dupla face em uma cartela e posteriormente foram inviabilizados em câmara de luz UV, por 45 minutos.

Para o experimento que *S. frugiperda* foi o hospedeiro, foram selecionadas massas de ovos sem camadas e de aproximadamente 30 ovos. As massas de ovos foram coladas em cartelas similares aos experimentos anteriores.

As cartelas foram inseridas nos tubos de vidro, uma por tubo, e permitido o parasitismo durante 24h. Diariamente eram ofertadas novas cartelas e as cartelas ofertadas no dia anterior retiradas, transferidas para sacos plásticos e armazenadas nas mesmas condições ao qual foi permitido o parasitismo, sendo o processo repetido até a morte das fêmeas. Os parâmetros avaliados foram: quantidade de ovos parasitados por dia, número de ovos parasitados por fêmea, parasitismo acumulado e longevidade das fêmeas.

1.2.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi adotado delineamento inteiramente casualizado (DIC). Para os parâmetros de número de parasitismo e viabilidade de parasitismo por fêmea de *T. pretiosum* foram tabulados de acordo com cada temperatura e hospedeiro testado. No qual foi adotado com tratamento as temperaturas, contendo 20 repetições. Esses dados foram submetidos a teste de variância (ANOVA de 1 fator). Esse teste foi realizado para cada hospedeiro separadamente. Quando significativo, foi realizado comparação de médias pelo teste de Tukey ($p < 0.05$) no software SAS OnDemand (<https://welcome.oda.sas.com>) usando o procedimento LSMEANS.

A relação entre média de parasitismo diária (ovos parasitados/fêmea) e o parasitismo acumulado = $[(\text{somatória da média de parasitismo do dia} \times 100) / \text{somatória da média do último dia de parasitismo}]$ foi determinada através de gráficos de análise descritiva criados no SigmaPlot v. 15.0. Para estimar a longevidade foram traçadas curvas de sobrevivência utilizando as estimativas de sobrevivência média de Keplan-Meier (KEPLAN; MEIER, 1958) pelo teste de Log Rank ($p < 0.05$) no software Sigma Plot v.15.0.

1.3. RESULTADOS

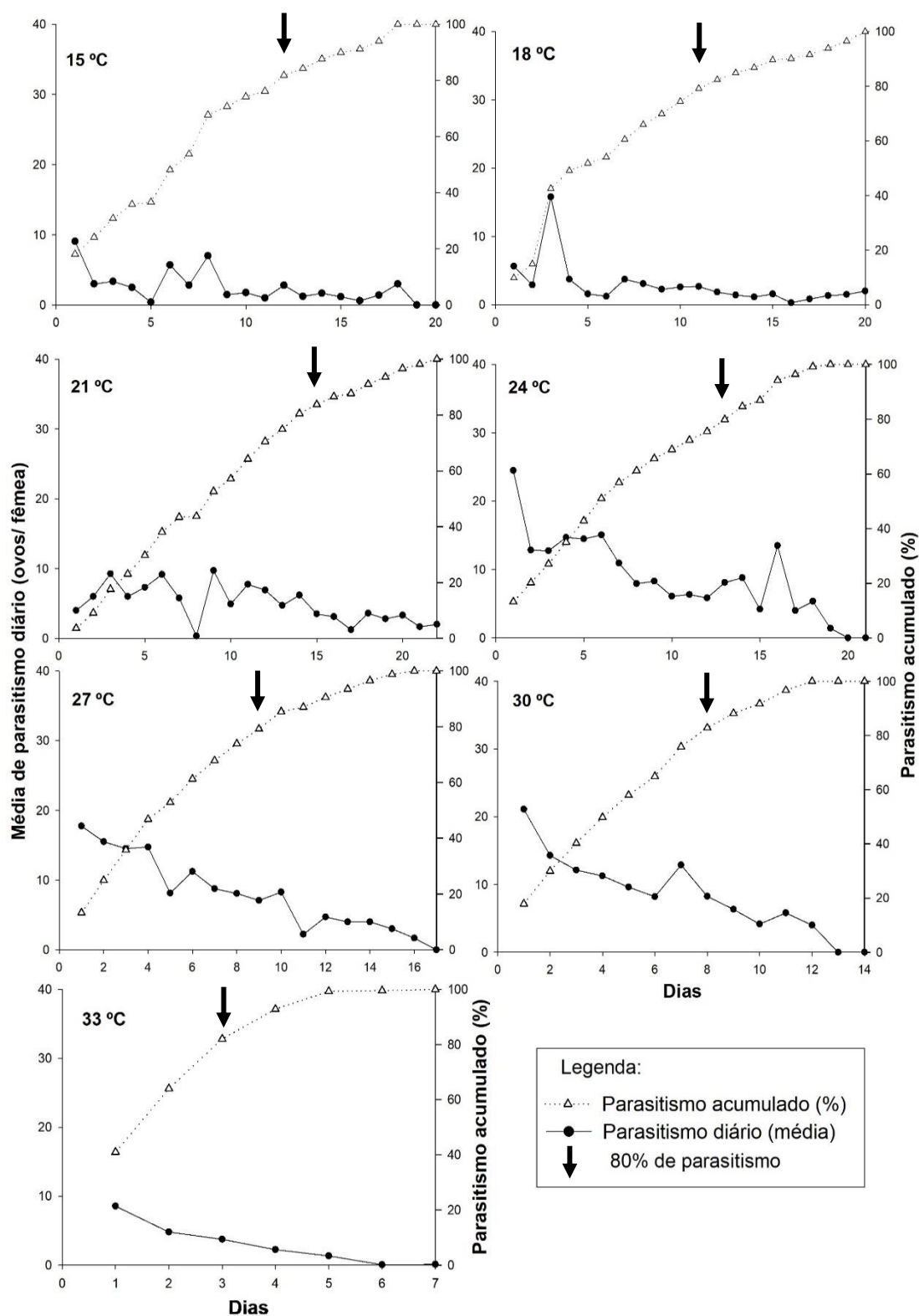
1.3.1. COLETA DE PARASITOIDES

A linhagem de *Trichogramma* spp. coletada foi identificada como pertencente a espécie *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), e para facilitar a distinção dessa espécie de outras da criação em laboratório, foi nomeada como *T. pretiosum* linhagem Lageado. A identificação foi realizada seguindo chave de identificação descrita por Querino e Zucchi (2011).

1.3.2. CAPACIDADE DE PARASITISMO, PROBABILIDADE DE SOBREVIVÊNCIA E LONGEVIDADE DE *Trichogramma pretiosum* EM OVOS DE *Anagasta kuehniella*

O ritmo de parasitismo diário de *T. pretiosum* foi influenciado pela temperatura (Figura 1). Grande parte das temperaturas, exceto a 18 e 21°C, maior quantidade de ovos foi parasitada no primeiro dia de parasitismo, no entanto essa quantidade de ovos variou de 10-20 ovos parasitados/dia (Figura 1). Já em temperaturas de 18 e 21°C um maior número de ovos foi parasitado ao terceiro dia. O parasitismo acumulado de 80% foi alcançado mais rápido em temperaturas mais altas, no nono, oitavo e quarto dia de parasitismo nas temperaturas de 27, 30 e 33°C respectivamente (Figura 1). No entanto, nessas condições as fêmeas tem capacidade de parasitismo menor, comparada quando submetidas a condições de temperaturas mais baixas. Em temperaturas mais baixas (15, 18, 21 e 24°C), as fêmeas chegaram a atingir 80%, porém de forma mais tardia, a partir do 11º dia de parasitismo (Figura 1).

Figura 1 - Média de parasitismo diário e parasitismo acumulado de *Trichogramma pretiosum* linhagem Lageado em ovos de *Anagasta kuehniella* em temperaturas de 15, 18, 21, 24, 27, 30 e 33 °C (UV 70±10% e fotofase 14:10).



As temperaturas mais favoráveis para o parasitismo de *T. pretiosum* foram 24 e 27°C, nas quais a quantidade de ovos parasitados foi expressivamente superior às demais temperaturas (Tabela 1). Em temperaturas frias, 15 e 18°C ou em temperaturas elevadas, 33°C *T. pretiosum* tem capacidade de parasitismo reduzida, o número de ovos parasitados é significativamente menor ($F= 16.23$; $df= 6, 133$; $p< 0.0001$). A média de ovos com orifício de saída de *T. pretiosum*, ou seja, aqueles que tiveram emergência de *T. pretiosum* foi menor do que a quantidade de ovos parasitados, mas teve resultado similares ao parasitismo, onde temperaturas de 24 e 27°C tiveram maior emergência de parasitoides e quantidade menor de *T. pretiosum* emergido foi menor, e significativamente iguais nas temperaturas de 15, 18 e 33 °C. Em condições de temperaturas de 21 e 30°C o parasitismo e média de ovos com orifício de saída de parasitoides foram iguais ($F= 18.02$; $df= 6, 133$; $p< .0001$) (Tabela 1).

Tabela 1 - Total de ovos parasitados/fêmea e ovos emergidos (média $\pm$ erro padrão) de *Trichogramma pretiosum* linhagem Lageado em ovos de *Anagasta kuehniella* em temperaturas de 15,18,21, 27, 30 e 33°C (UV 70 $\pm$ 10% e fotofase 14:10).

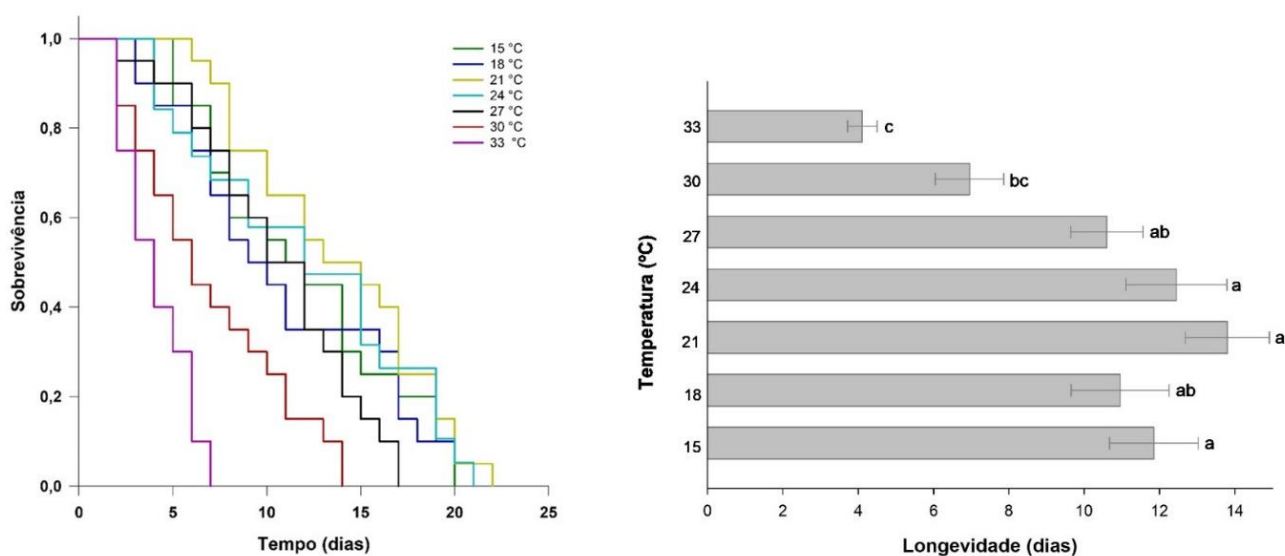
Temperatura (°C)	Número de ovos parasitados/fêmea	Número de ovos com orifício de saída de <i>T. pretiosum</i>
15	37.15 $\pm$ 4.22 cd	28.35 $\pm$ 4.01 c
18	44.3 $\pm$ 4.39 cd	26.70 $\pm$ 2.71 c
21	79.85 $\pm$ 9.97 bc	70.75 $\pm$ 9.04 b
24	137.4 $\pm$ 14.73 a	124.95 $\pm$ 13.65 a
27	107.05 $\pm$ 13.39 ab	101.15 $\pm$ 12.31 ab
30	76.1 $\pm$ 13.44 bc	76.10 $\pm$ 13.44 b
33	20.85 $\pm$ 4.57 d	19.30 $\pm$ 4.42 c
F	16.23	18.02
Df	6,133	6,133
P valor	< 0,0001	<.0001

Médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não possuem diferença estatística pelo teste de Tukey ($p< 0.05$).

A probabilidade de sobrevivência de *T. pretiosum* em ovos de *A. kuehniella* submetidos a condições de diferentes temperaturas (Figura 2) foi maior quando mantidos a 21°C. Nesta temperatura fêmeas de *T. pretiosum* tem probabilidade de sobrevivência de até 22 dias. No geral, em temperatura mais amenas de 24, 27, 15

e 18°C, a probabilidade de sobrevivência foi maior (>20 dias). No entanto, a longevidade média, nessas temperaturas, não diferiu estatisticamente entre si ($F=9.98$; $df= 3, 133$; $p<0.001$) (Figura 2). A partir do aumento nas temperaturas, observou-se que a probabilidade de sobrevivência e longevidade de fêmeas de *T. pretiosum* diminuiu (Figura 2).

Figura 2 - Curva de sobrevivência por estimativas de Kaplan-Meier e longevidade (média $\pm$ erro padrão) de fêmeas de *Trichogramma pretiosum* em ovos de *Anagasta kuehniella* em temperaturas de 15, 18, 21, 24, 27, 30 e 33 °C (UV 70 $\pm$ 10% e fotofase 14:10).



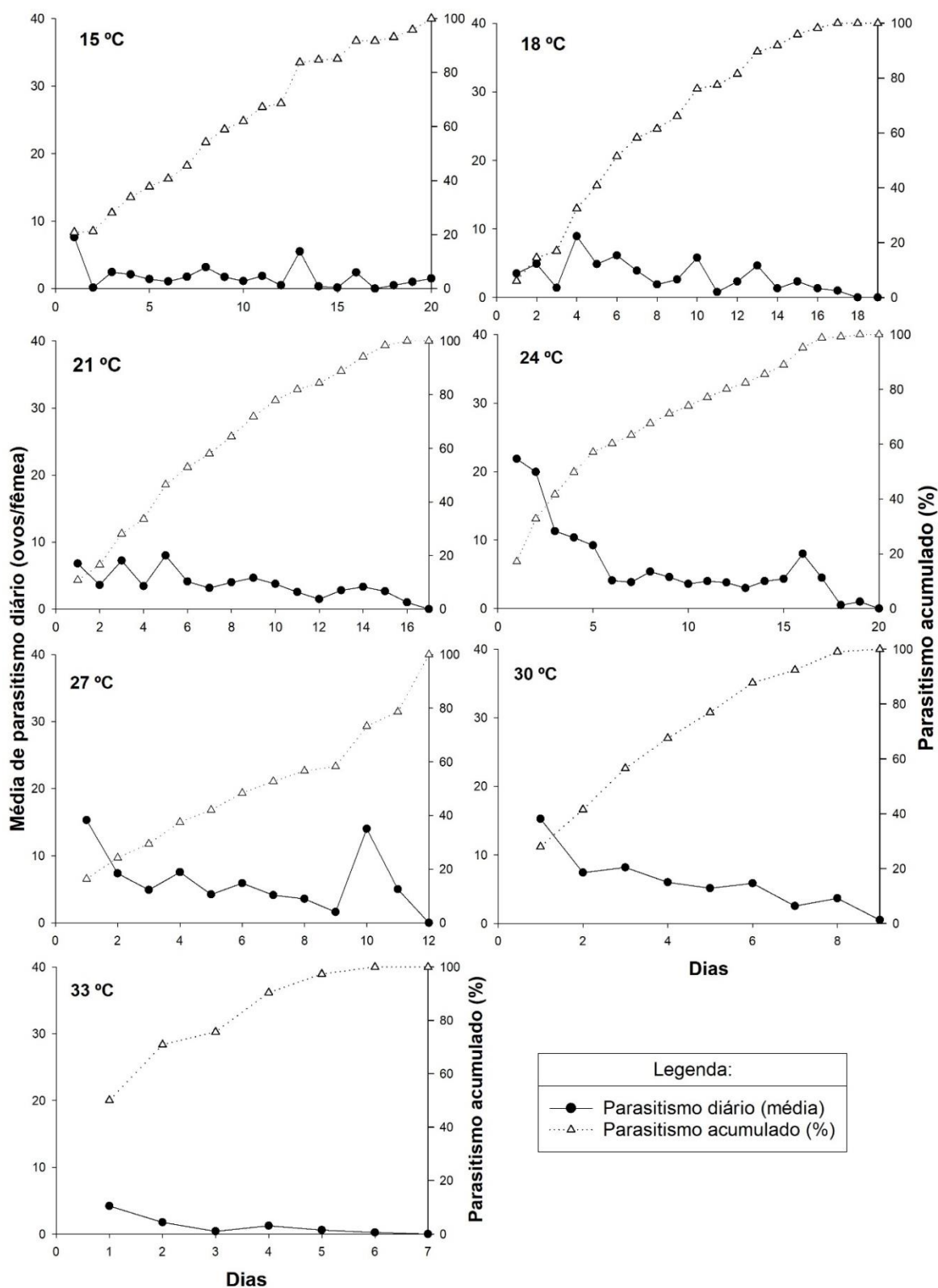
Médias seguidas por letras iguais não possuem diferença estatística pelo teste de Tukey ($p < 0.05$).

Como esperado, a longevidade média das fêmeas de *T. pretiosum* foi menor em temperaturas altas (33°C) comparado a temperaturas mais amenas (15, 18, 21, 24 e 27°C) ($F=9.98$; $df= 3, 133$; $p<0.001$) (Figura 2).

1.3.3. CAPACIDADE DE PARASITISMO, PROBABILIDADE DE SOBREVIVÊNCIA E LONGEVIDADE DE FÊMEAS DE *Trichogramma pretiosum* EM OVOS DE *Corcyra cephalonica*

Fêmeas de *T. pretiosum* em ovos do hospedeiro *C. cephalonica* possui desenvolvimento semelhante ao desenvolvimento em ovos de *A. kuehniella*. Quando são submetidas a temperaturas de 15, 24, 27, 30 e 33°C a maior quantidade de ovos são parasitadas no primeiro dia de parasitismo. Nas temperaturas de 18 e 21°C mais ovos de *C. cephalonica* foram parasitados ao terceiro dia (Figura 3). O parasitismo acumulado de 80% foi atingido somente a partir do 10º dia de parasitismo, em condições de 15, 18, 21, 24 e 27°C. Em condições de temperaturas mais quentes, 30 e 33°C, o parasitismo acumulado de 80% ocorreu mais rápido, com cerca de 4 a 5 dias de parasitismo (Figura 3).

Figura 3 - Média de parasitismo diário e parasitismo acumulado de *T. pretiosum* linhagem Lageado em ovos de *C. cephalonica* em temperaturas de 15, 18, 21, 24, 27, 30 e 33 °C (UV 70±10% e fotofase 14:10).



Em ovos de *C. cephalonica*, o maior número de ovos parasitados/ fêmea foi obtido na temperatura de 24°C. As temperaturas baixas (15, 18 e 21°C) tiveram média de ovos parasitados estatisticamente similares entre si e entre as temperaturas de 27 e 30°C e as menores médias de parasitismo ocorreu aos 33°C, mas estatisticamente similar a média de parasitismo das temperaturas de 15 e 18°C ($F=10.82$; $df=6,133$; $p<0.0001$) (Tabela 2).

Quanto a emergência, observa-se que o maior número de *T. pretiosum* emergidos ocorreu na temperatura de 24°C. A temperatura de 27°C teve o segundo maior número de parasitoides emergidos, quando comparado as temperaturas de 15, 24 e 33°C. No entanto, a média de emergência foi considerada estatisticamente igual às temperaturas de 18, 21 e 30°C, e estas foram estatisticamente iguais as menores médias de emergência obtidas na temperatura mais baixa (15°C) e na temperatura mais alta (33°C) ($F=26.74$; $df=6,133$; $p<0.0001$) (Tabela 2).

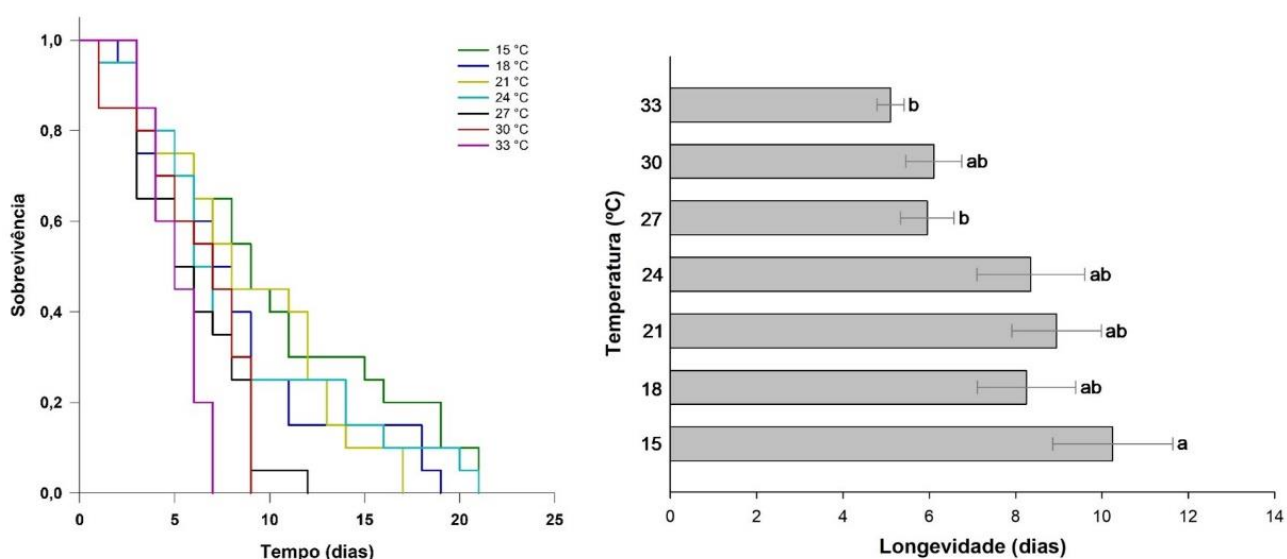
Tabela 2 – Número de ovos/fêmea parasitados e com orifício de saída (média ± erro padrão) de *Trichogramma pretiosum* linhagem Lageado em ovos de *Corcyra cephalonica* em temperaturas de 15, 18, 21, 27, 30 e 33°C

Temperatura (°C)	Número de ovos parasitados/fêmea	Número de ovos com orifício de saída de <i>T. pretiosum</i>
15	21.8 ± 3.2 bc	4.3 ± 1.0 c
18	30.0 ± 5.4 bc	7.9 ± 1.8 bc
21	41.0 ± 5.9 b	11.2 ± 1.7 bc
24	76.3 ± 10.0 a	57.4 ± 7.6 a
27	43.4 ± 9.4 b	21.2 ± 5.6 b
30	43.9 ± 5.5 b	6.4 ± 1.4 bc
33	7.8 ± 1.2 c	0.6 ± 0.3 c
F	10.8	26.7
df	6.133	6.133
P valor	<.0001	<.0001

Médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não possuem diferença estatística pelo teste de Tukey ($p<0.05$).

As temperaturas de 15, 24, 18 e 21°C possibilitaram maior probabilidade de sobrevivência (> 16 dias). Similar aos demais hospedeiros, quando em temperaturas mais elevadas as fêmeas tiveram menores probabilidade de sobrevivência (<12 dias). Fêmeas submetidas a temperatura de 15°C tiveram maior longevidade comparada com a fêmeas mantidas em temperaturas mais altas, 27 e 33°C. Comparada as demais temperaturas, 18, 21, 24 e 30°C a longevidade média foi estatisticamente igual, cerca de 8,25, 8,97, 8,35 e 6,10 dias, respectivamente ($F=3.60$; $df=6,133$; $p<0.002$) (Figura 4).

Figura 4 - Curva de sobrevivência por estimativas de Kaplan-Meier e longevidade (média $\pm$ erro padrão) de fêmeas de *Trichogramma pretiosum* em ovos de *Corcyra cephalonica* em temperaturas de 15, 18, 21, 24, 27, 30 e 33 °C (UV 70 $\pm$ 10% e fotofase 14:10).



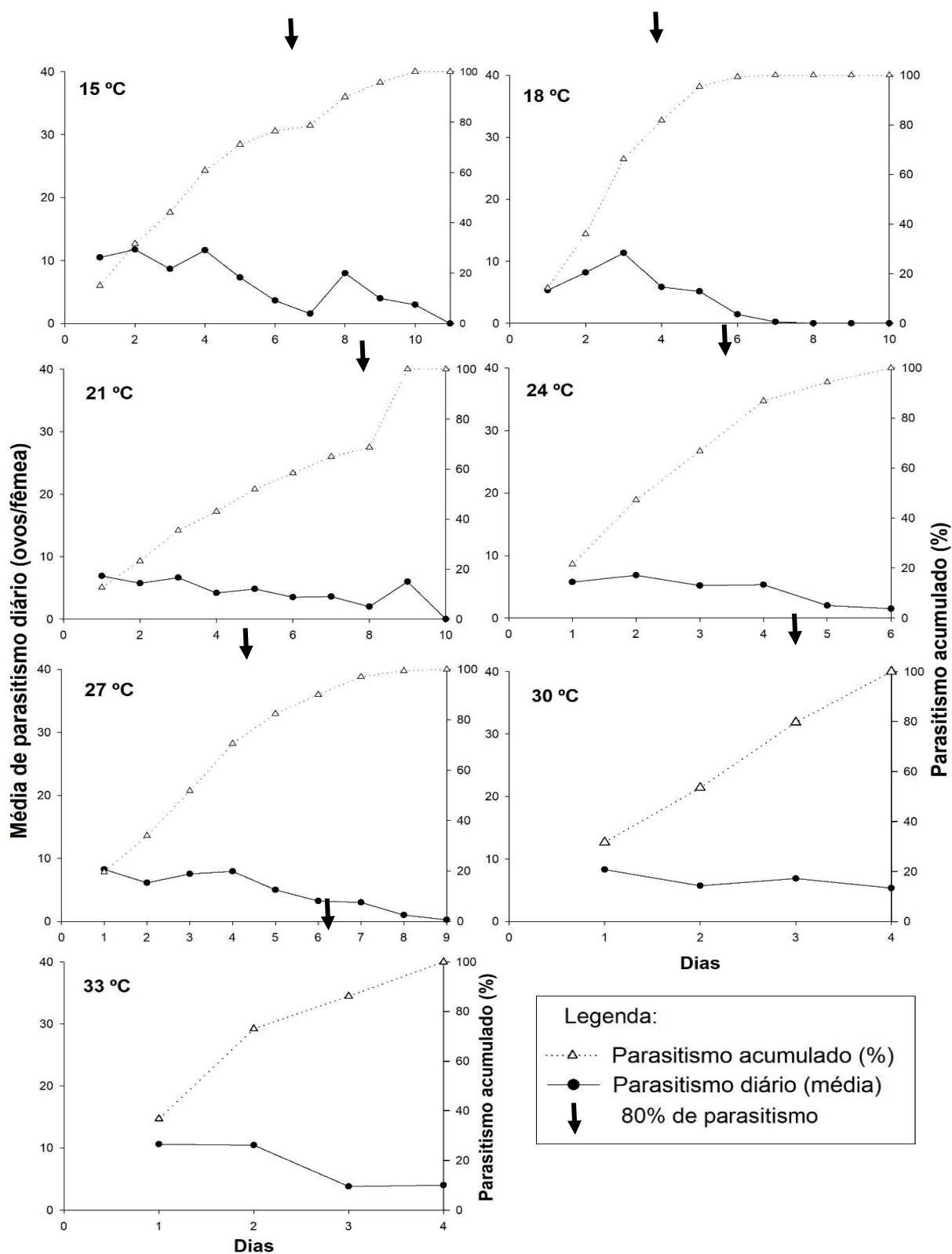
Médias seguidas por letras iguais não possuem diferença estatística pelo teste de Tukey ($p < 0.05$).

1.3.4. CAPACIDADE DE PARASITISMO, PROBABILIDADE DE SOBREVIVÊNCIA E LONGEVIDADE DE FÊMEAS DE *Trichogramma pretiosum* EM OVOS DE *Spodoptera frugiperda*

Fêmeas de *T. pretiosum* criadas em ovos de *S. frugiperda* quando em temperaturas de 21°C parasitaram maior quantidade de ovos no primeiro dia de exposição, e somente atingiram 80% de parasitismo a partir do oitavo dia. Em

temperaturas de 15, 18, 24 e 30°C o parasitismo diário foi maior a partir do segundo ou terceiro dia de exposição das fêmeas a ovos de *S. frugiperda*. Em temperaturas mais quentes o parasitismo de 80% dos ovos é atingido no terceiro dia enquanto que em temperaturas mais baixas o parasitismo acumulado de 80% dos ovos é alcançado a partir do oitavo dia (Figura 5).

Figura 5 - Média de parasitismo diário e parasitismo acumulado de *T. pretiosum* linhagem Lageado em ovos de *S. frugiperda* em temperaturas de 15, 18, 21, 24, 27, 30 e 33 °C (UV 70±10%, fotofase 14:10).



O número de ovos parasitados/ fêmea quando em ovos de *S. frugiperda* foi maior na temperatura de 15°C ($F=9.84$; $df=6.133$; $p<0.001$). As temperaturas de 18°C teve a segunda maior média de parasitismo, comparado as temperaturas de 15 e 33°C. Já o parasitismo na temperatura de 18°C foi estatisticamente igual ao parasitismo nas temperaturas de 21, 24, 27°C e estas tiveram o parasitismo estatisticamente igual a média de parasitismo a 33°C ($F=9.84$; $df=6.133$; $p<0.001$) (Tabela 3). No entanto, a média de ovos com orifício de saída de *T. pretiosum* nos ovos de *S. frugiperda* foi possível observar que na temperatura de 15°C não houve emergência de *T. pretiosum*. A maior emergência de *T. pretiosum* ocorreu a 27°C seguida pela temperatura de 24°C. Temperaturas mais baixas, 15, 18 e 21°C e as mais altas, 30 e 33°C tiveram as menores médias de emergência de *T. pretiosum* ($F=18.10$; $df=6,133$; $p<0.001$) (Tabela 3).

Tabela 3 - Número de ovos parasitados/fêmea e com orifício de saída (média $\pm$ erro padrão) de fêmeas de *Trichogramma pretiosum* linhagem Lageado em ovos de *Spodoptera frugiperda* em temperaturas de 15,18,21, 27, 30 e 33°C (UV 70 $\pm$ 10%, fotofase 14:10).

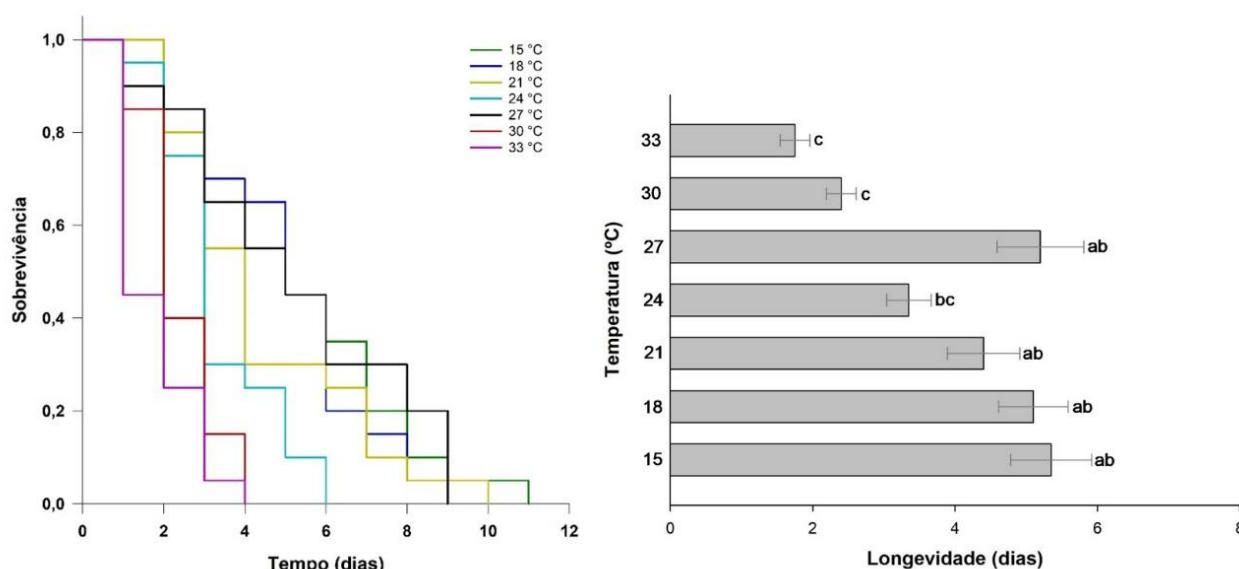
Temperatura (°C)	Número de ovos parasitados /fêmea	Número de ovos com orifício de saída de <i>T. pretiosum</i>
15	46.4 $\pm$ 4.5 A	0.0 $\pm$ 0.0 c
18	31.3 $\pm$ 2.8 B	0.7 $\pm$ 0.3 c
21	24.1 $\pm$ 3.4 bc	3.9 $\pm$ 1.5 cb
24	18.4 $\pm$ 3.0 bc	7.0 $\pm$ 1.7 b
27	30.7 $\pm$ 4.5 bc	16.7 $\pm$ 2.4 a
30	16.7 $\pm$ 2.5 bc	3.9 $\pm$ 0.8 cb
33	16.4 $\pm$ 2.7 C	2.3 $\pm$ 0.8 cb
F	9.8	18.1
Df	6, 133	6, 133
P valor	<.0001	<.0001

Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não possuem diferença estatística pelo teste de Tukey ($p<0.05$).

De forma geral, as fêmeas de *T. pretiosum* tiveram menor probabilidade de sobrevivência quando criados em ovos de *S. frugiperda*. O período de sobrevivência foi significativamente menor (aproximadamente 12 dias) quando comparado aos demais hospedeiros. A temperatura de 15°C teve maior probabilidade de

sobrevivência das fêmeas, seguida pelas temperaturas de 18, 21 e 27°C, cerca de 9 a 11 dias. Quando mantidas em temperaturas de 24, 30 e 33°C a probabilidade de sobrevivência diminuiu significativamente, no qual todas as fêmeas morreram em no máximo quatro dias em temperaturas de 30 e 33°C e na temperatura de 24°C as fêmeas sobreviveram no máximo seis dias (Figura 6).

Figura 6 - Curvas de sobrevivência por estimativas de Kaplan-Meier e longevidade (média $\pm$ erro padrão) de fêmeas de *Trichogramma pretiosum* em ovos de *Spodoptera frugiperda* em temperaturas de 15, 18, 21, 24, 27, 30 e 33 °C (UV 70 $\pm$ 10%, fotofase 14:10).



Médias seguidas por letras iguais não possuem diferença estatística pelo teste de Tukey ($p < 0.05$).

A longevidade de *T. pretiosum* em ovos de *S. frugiperda*, semelhante aos outros hospedeiros, tende a ser maior quando em menores temperaturas. A longevidade média foi maior na temperatura de 15°C quando comparado as temperaturas mais altas, 30 e 33°C. Quando comparado às temperaturas de 18, 21 e 27°C não houve diferença estatística ($F=10.51$; $df=6,133$; $p < 0.001$) (Figura 6).

1.4. DISCUSSÃO

Não foi possível coletar muitas espécies/linhagens de parasitoides de ovos associadas a *S. frugiperda*. Isso se deve ao fato de que praticamente todas as áreas utilizarem inseticidas químicos não-seletivos, o que dificulta a permanência das espécies benéficas na área, devido a permanência de parasitoides ser maior em área com menor uso de inseticidas (ASAMANI, 2020).

Com relação aos hospedeiros testados, *A. kuehniella* e *C. cephalonica*, são traças da mesma família, porém observou-se que *T. pretiosum* desenvolve-se melhor em *A. kuehniella*. Esse trabalho mostra que a média de parasitismo foi superior a 100 ovos em temperatura de 24 e 27°C em *A. kuehniella*, enquanto nos outros hospedeiros o parasitismo máximo variou entre cerca de 40 a 70 ovos. O melhor desempenho de *T. pretiosum* em *A. kuehniella* comparado a *C. cephalonica* já é conhecido, pois grande parte dos estudos com uso de *T. pretiosum* e a multiplicação em laboratório, em grande maioria, é feita em ovos desse hospedeiro (PARRA; ZUCCHI, 2004; COELHO et al., 2016). Estudos relatam que o hospedeiro pode interferir na sobrevivência e desenvolvimento do parasitoide em diversos níveis, desde a nutrição dos indivíduos dentro do ovo, morfometria, emergência e viabilidade (CARVALHO et al., 2017; SILVA et al., 2022). Posteriormente, pode interferir também na ação desses parasitoides em campo, quando atuando no controle do inseto-praga alvo.

Mesmo essa linhagem de *T. pretiosum* sendo coletada em ovos de *S. frugiperda*, em laboratório é notório que esse hospedeiro não seria eficaz para produção de um grande número de parasitoides, pois tem baixo parasitismo. De acordo com Dong et al., 2021 as defesas morfológicas das massas de ovos de *S. frugiperda* exercem influência no comportamento dos parasitoides, no qual a presença de escamas sobre a massa de ovos de *S. frugiperda* dificultam o acesso das fêmeas de *T. pretiosum* aos ovos e assim a quantidade de ovos parasitados é menor quando comparada a ovos sem escamas. Seria ideal aprofundar os estudos a cerca dessa linhagem de *T. pretiosum* para atestar o quanto essas defesas morfológicas de *S. frugiperda* podem interferir no parasitismo quando em liberações em campo.

Similar a outros estudos de parasitismo de *T. pretiosum* em hospedeiros alternativos (CARVALHO et al., 2014; MONTEIRO et al., 2021), as maiores taxas de

parasitismo se concentram nas primeiras 24h e posteriormente vai decrescendo. Nesse estudo, consideramos o parasitismo médio diário de *T. pretiosum* em ovos de *C. cephalonica* e *S. frugiperda* baixo comparado ao parasitismo em ovos de *A. kuehniella*. No entanto, comparado a outros trabalhos, o maior parasitismo aqui relatado (76,3 ovos de *C. cephalonica* parasitados a 24°C) é superior a relatada no trabalho de Monteiro et al., 2021 ao qual a média de parasitismo de *T. pretiosum* em ovos de *C. cephalonica* foi apenas de 20 a 30 ovos.

Como já esperado, temperaturas mais baixas (15 e 18°C), tem menor taxa de parasitismo, exceto quando o hospedeiro foi *S. frugiperda* no qual o parasitismo de fêmeas de *T. pretiosum* foi expressivo em temperatura de 15°C, no entanto, não teve emergência de parasitoides. Em temperaturas inferiores a 20°C a emergência de *T. pretiosum* é reduzida, assim como em temperaturas de 30 e 33°C, foi constatado a redução de parasitismo, emergência, sobrevivência e longevidade de fêmeas de *T. pretiosum*. Temperaturas extremas exercem influência nos parâmetros biológicos e sobrevivência dos parasitoides (PASTORI; MONTEIRO BOTTON, 2008; COUTINHO et al., 2021).

Os melhores índices de parasitismo e/ou emergência ocorreram a temperaturas entre 24 e 27°C. Quando o hospedeiro era *A. kuehniella*, não houve diferença significativa entre as temperaturas de 24 e 27°C. Em ovos de *C. cephalonica*, a maior taxa de parasitismo e emergência ocorreu a 24°C e em temperaturas de 27°C a emergência de *T. pretiosum* foi maior quando o hospedeiro foi *S. frugiperda*. Esse resultado corrobora com o trabalho de Carvalho et al., (2017) que avaliou o parasitismo e emergência de *T. pretiosum* em ovos de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae), no qual o parasitismo e emergência foi maior quando as fêmeas de *T. pretiosum* estavam em temperaturas em torno de 25°C.

A determinação da temperatura ideal que possibilite melhor desenvolvimento ao parasitoide é de suma importância para criação massal em laboratório e até mesmo para o melhor entendimento da dinâmica da espécie em condições de alterações climáticas. Esse trabalho é de grande importância para elucidar a importância de estudar a viabilidade de hospedeiros alternativos para criação de *T. pretiosum* em laboratório. O melhor hospedeiro para criação de *T. pretiosum* linhagem Lageado é *A. kuehniella* em temperaturas entre 24 e 27°C. No entanto, estudos de liberação em campo são necessários para atestar a real viabilidade da utilização dessa linhagem em programas de controle biológico de *S. frugiperda*, seja

de forma individual ou em associação a outras espécies de parasitoides ou até mesmo combinada a outras táticas de manejo.

REFERÊNCIAS

- ASAMANI, E. Influence of biorational insecticides on parasitoid species associated with fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E Smith). **Doctoral Thesis**. 2020
- BOTHA, A. S. et al., (2019). Efficacy of *Bt* maize for control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in South Africa. **Journal of Economic Entomology**, v. 112, n.3, p. 1260-1266, 2019.
- CARVALHO, J. R. et al. Parasitism capacity of *Trichogramma pretiosum* on eggs of *Trichoplusia ni* at different temperatures. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 36, p. 417-424, 2014.
- COELHO JR, A et al., Laboratory performance predicts the success of field releases in inbred lines of the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Plos one**, v. 11, n.1, 2016.
- COUTINHO et al., Thermal requirements of *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) lines in *Neoleucinodes elegantalis* (Lepidoptera: Crambidae) eggs. **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 47, n. 1, 2021.
- DONG, H. et al., Morphological defense of the egg mass of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) affects parasitic capacity and alters behaviors of egg parasitoid wasps. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 24, n.3, 671-678. 2021.
- GHAEMMAGHAMI, E. et al., Continuous rearing on *Ephesia kuehniella* reshaped quality of the parasitoid wasp *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, 24(2), 166-174, 2021.
- GREENE, G. L.; LEPLA, N. C.; DICKERSON, W. A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology**, v. 69, 487-488, 1976.
- HASSAN, S. A. Seleção de espécies de *Trichogramma* para o uso em programas de controle biológico. In: Parra J. R. P. & Zucchi, R. A. (eds.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: FEALQ; 1997. p.183-206.
- INGBER, D. A. et al., Oviposition preferences, Bt susceptibilities, and tissue feeding of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) host strains. **Pest Management Science**, v. 77, n.9, p. 4091-4099, 2021.
- KAPLAN, E. L.; MEIER, P. Nonparametric estimation from incomplete observations. **Journal of the American statistical association**, v. 53, n. 282, p. 457-481, 1958.

KENIS, M. et al., Invasiveness, biology, ecology, and management of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. Review. **Entomologia Generalis**, 2022.

MONTEZANO, D. G. et al., Host plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas. **African Entomology**, v. 26, n.2, p. 286-300, 2018.

MONTEIRO et al., Parasitism of *Trichogramma Pretiosum* in Eggs of *Corcyra Cephalonica* on the Age of the Parasitoid and the Density of the Host. **Research square**, v. 14, p. 1-14, 2021.

MOLINA-OCHOA, J. et al. Parasitoids and parasites of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas and Caribbean Basin: an inventory. **Florida Entomologist**, v. 86, n.3, p. 254-289, 2003

OMOTO, C. et al., Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. **Pest Management Science**, v. 72, n.9, p.1727-1736, 2016.

OLIVEIRA, R. C. M. et al. Natural parasitism of *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in *Neoleucinodes elegantalis* (Lepidoptera: Crambidae) eggs on tomato (Solanales: Solanaceae) in the Northeast region, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 80, p. 474-475, 2019.

PASTORI, P. L., MONTEIRO, L. B., BOTTON, M. Biologia e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae)" linhagem bonagota" criado em ovos de *Bonagota salubricola* (Meyrick) (Lepidoptera, Tortricidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.52, p. 472-476, 2008.

PARRA, J. R., ZUCCHI, R. A. *Trichogramma* in Brazil: feasibility of use after twenty years of research. **Neotropical Entomology**, v. 33, p. 271-281, 2004.

PINTO, J. R. L.; FERNANDES, O. A. Parasitism capacity of *Telenomus remus* and *Trichogramma pretiosum* on eggs of moth pests of peanut. **Bulletin Insectology**, v. 73, p.71-78, 2020.

QUERINO, R. B.; ZUCCHI, R. A. Guia de identificação de *Trichogramma* para o Brasil, 2011.

SILVA, C. B. et al., Influence of factitious hosts on the morphometry and diversity of endosymbionts of the egg parasitoid *Telenomus remus*: insights for applied biological control. **Phytoparasitica**, p. 1-12, 2022.

SILVA, C. S. B. et al. Evidence of exploitative competition among egg parasitoids of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in maize. **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 41, n. 2, p. 184-186, 2015.

TEPA-YOTTO, G. T. et al. Global habitat suitability of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera, Noctuidae): Key parasitoids considered for its biological control. **Insects**, v. 12, n. 4, p.273, 2021.

WENGRAT, A.P.G.S. et al., Integrative taxonomy and phylogeography of *Telenomus remus* (Scelionidae), with the first record of natural parasitism of *Spodoptera* spp. in Brazil. **Scientific Report**, v. 11, p. 14110, 2021.

CAPÍTULO 2

INFLUÊNCIA DE DIFERENTES DIETAS NOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE *Corcyra cephalonica* Stainton (Lepidoptera: Pyralidae) E NO PARASITISMO DE *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae)

Carolane Benjamin da Silva; Regiane Cristina de Oliveira.

RESUMO

A criação de parasitoides em hospedeiros alternativos, visa possibilitar a produção massal a custos baixos de uma grande quantidade de indivíduos. No entanto, os ingredientes consumidos pelos hospedeiros exercem influência nas condições nutricionais da espécie hospedeira e, conseqüentemente, do parasitoide. Portanto, o objetivo desse estudo é comparar o efeito de diferentes dietas no desenvolvimento do hospedeiro alternativo *C. cephalonica* e no parasitismo e emergência de parasitoides de ovos associados a *S. frugiperda*. Foram testadas diferentes combinações de germe de trigo torrado, farinha de sorgo, amendoim triturado, levedo de cerveja e farinha de arroz para formulação de dietas para a criação de *C. cephalonica*. Para cada tratamento foram avaliados os parâmetros de duração do período ovo-adulto, emergência de adultos, longevidade, quantidade de ovos produzidos, razão sexual e período total de desenvolvimento. Posteriormente, foi realizado ensaio de parasitismo em ovos de *T. pretiosum* para avaliar o parasitismo, emergência e razão sexual dos parasitoides produzidos nas diferentes dietas. Os resultados mostraram que há diferenças significativas entre as dietas avaliadas. Dietas contendo germe de trigo torrado + amendoim triturado foram igualmente eficientes entre si na produção de *C. cephalonica*, e superior a dieta padrão contendo germe de trigo torrado + levedo de cerveja. As dietas testadas não tiveram efeito no parasitismo e razão sexual de *T. pretiosum*. No entanto, dietas contendo farinha de sorgo + amendoim torrado não são propícias ao desenvolvimento de *C. cephalonica*.

Palavras-chave: criação massal; dietas artificiais; controle biológico.

ABSTRACT

The rearing of parasitoids in alternative hosts, aims to enable mass production at low cost of a large amount of individuals. However, the ingredients consumed by the hosts influence their nutritional conditions and, consequently, the parasitoid. Based on this, the objective of this study was to compare the effect of different diets on the development of the alternative host *C. cephalonica* on the parasitism and emergence of egg parasitoids associated with *S. frugiperda*. Different combinations of wheat germ, sorghum, peanuts, yeast and rice bran were tested to formulate diets for rearing *C. cephalonica*. For each treatment, the parameters of duration of the egg-adult period, emergence of adults, longevity, number of eggs produced, and sex ratio were evaluated. Subsequently, a parasitism test was carried out on *T. pretiosum* eggs to evaluate the percentage of parasitism, emergence and sex ratio of the parasitoids produced in the different diets. The results show that there are significant differences among the evaluated diets. Diets containing wheat germ + peanut are equally efficient in the production of *C. cephalonica* than the traditionally used diet containing wheat + yeast. The tested diets have no effect on parasitism and sex ratio of *T. pretiosum*. However, diets containing sorghum + peanuts are not suitable for the development of *C. cephalonica*.

Keywords: mass rearing; artificial diet; biological control.

2.1 INTRODUÇÃO

Corcyra cephalonica Stainton (Lepidoptera: Pyralidae), conhecida como traça-do-arroz, é uma praga de grãos armazenados, no entanto, é conhecida também como um hospedeiro alternativo que possibilita a produção de agentes de controle biológico (VINCENT; SINGH; MATHEW, 2021), como por exemplo, o parasitoide larval *Habrobracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae), e os parasitoides de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley, *Trichogramma chilonis* Ishii (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) (NATHAN et al., 2006; VINCENT; SINGH; MATHEW, 2021; AMADOU et al., 2019; SILVA et al., 2022).

Devido às limitações acerca da criação massal em ovos de alguns hospedeiros naturais, *C. cephalonica* se tornou um hospedeiro alternativo eficaz e torna possível a criação de muitos agentes de controle biológico de forma economicamente viável. Os estudos a cerca desse hospedeiro são recorrentes por se tratar de uma traça ao qual demanda pouco custo de criação e possibilita a alta produção de parasitoides (QUEIROZ et al., 2017; SILVA et al., 2022). No entanto, fatores como os nutrientes contidos nos ovos do hospedeiro podem não ser suficientes para o desenvolvimento eficiente dos parasitoides no interior desses ovos, causando assim consequência direta na emergência e sobrevivência destes parasitoides.

Os ingredientes consumidos pelos hospedeiros exercem influência nas condições nutricionais do parasitoide, devido os nutrientes necessários para o desenvolvimento do parasitoide ser adquirido do corpo do hospedeiro (CHAPMAN, 1998). *Corcyra cephalonica* pode se alimentar de dietas com diferentes composições, com ingredientes como: sorgo, levedo de cerveja, germe de trigo, amendoim, arroz entre outros ingredientes (BERNARDI; HADDAD; PARRA et al., 2000; NATHAN et al., 2006; KUMAR et al., 2018; JHALA et al., 2019). Por isso, é imprescindível que seja determinada a dieta ideal visando garantir ao hospedeiro e posteriormente ao parasitoide a possibilidade de desenvolvimento de descendentes viáveis (MOGHADDASSI et al., 2019). Portanto, o objetivo desse estudo foi comparar o efeito de diferentes dietas no desenvolvimento do hospedeiro alternativo *C. cephalonica* e no parasitismo e emergência do parasitoides de ovos

Trichogramma pretiosum Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae).

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1. ÁREA EXPERIMENTAL

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório do Grupo de Pesquisa em Manejo Integrado de Pragas na Agricultura – AGRIMIP, na Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu/SP.

2.2.2. EFEITO DE DIFERENTES DIETAS NOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE *Corcyra cephalonica*

Foram testadas diferentes combinações de germe de trigo, farinha de sorgo, amendoim triturado, levedo de cerveja e farinha de arroz para formulação de dietas para a criação de *C. cephalonica*. A primeira dieta foi constituída de germe torrado e levedo, dieta tradicionalmente utilizada para criação de *C. cephalonica* (BERNARDI; HADDAD, PARRA, 2000); as outras combinações foram elaboradas com ingredientes que foram eficientes em estudos anteriores, os quais mostravam efetividade no desenvolvimento de *C. cephalonica* quando a dieta continha sorgo, amendoim ou farinha de arroz (JHALA et al., 2019; KUMAR et al., 2018).

Com isso, foram elaborados sete tratamentos: T1 - 940g de germe de trigo torrado + 60g de levedo de cerveja (dieta padrão), T2 - 500g de farinha de sorgo + 25g de amendoim triturado; T3 - 500g de farinha de arroz + 25g de amendoim triturado; T4 - 500g de germe de trigo torrado + 25g de amendoim triturado; T5 - 250g de farinha de sorgo + 250g de farinha de arroz + 25g de amendoim triturado; T6 - 250g de farinha de sorgo + 250g de germe de trigo torrado + 25g de amendoim triturado e T7 - 250g de farinha de arroz + 250g de germe de trigo torrado + 25g de amendoim triturado, cada tratamento contendo 20 repetições.

Os ingredientes foram esterilizados por calor, em estufa a 100°C durante 1h, posteriormente homogeneizados, distribuídos 20g de dieta em copos plásticos (100 mL) e inoculado 20 lagartas de *C. cephalonica* recém-eclodidas/copo. Os copos

foram tampados usando tecido voil fixados com elástico amarelo, para evitar a saída das lagartas, proporcionar trocas gasosas e entrada de luz. Os tratamentos foram acondicionados em sala climatizada (Temp. $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$, fotofase 12h (luz: escuro)).

Para cada tratamento foram avaliados os parâmetros de: Duração do período ovo-adulto – Total de tempo necessário de desenvolvimento de *C. cephalonica* da oviposição até a emergência dos adultos; emergência de adultos e fêmeas – [% Emergência de adultos = Número de adultos emergidos/ Número de lagartas inoculadas x 100]; [% emergência de fêmeas = Número de fêmeas adultas emergidas/ Número de lagartas inoculadas x 100]; Razão sexual – Foi realizado a separação de machos e fêmeas adultos, usando a metodologia do palpo labial (AYYAR, 1934) e determinada a razão sexual pela fórmula: [Razão sexual = (número de fêmeas/ (número de machos + número de fêmeas))]; fecundidade e número de ovos produzidos – De cada tratamento foram separados 10 casais, os casais (emergidos no mesmo dia) eram colocados em gaiolas (15×6cm) confeccionadas com folhas sulfite, vedadas na base e no topo com cápsulas plásticas (3×7cm). Diariamente eram retirados os ovos e posteriormente feito a contagem considerando os parâmetros de quantidade de ovos/fêmeas e média de ovos/tratamento; longevidade de machos e fêmeas – Tempo de vida dos indivíduos de cada tratamento, da emergência a morte.

Posteriormente, tendo como parâmetro a emergência de *C. cephalonica* de cada dieta, foram selecionadas quatro dietas (aquelas com maior emergência de adultos e fêmeas), para fazer o experimento de parasitismo de *T. pretiosum* em ovos de *C. cephalonica*.

2.2.3. PARASITISMO DE *Trichogramma pretiosum*

Os parasitoides de *T. pretiosum* utilizados foram obtidos da criação mantida em ovos de *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). Foram individualizadas, em tubo de fundo chato (8.5×2.5Ø), fêmeas de *T. pretiosum* recém emergidas (< 24h), previamente copuladas e alimentadas. Em cada tubo foi adicionado um filete de mel para alimentação e uma cartela confeccionada com papel couchê 170g (7×2cm) contendo cerca de 100 ± 20 ovos de *C. cephalonica* colados com auxílio de fita dupla face e previamente inviabilizados em câmara de luz UV, durante 45 minutos. O parasitismo foi permitido por 24h. Após o parasitismo, as

cartelas foram retiradas e acondicionadas em sacos plásticos de polietileno (PE)(5×23cm) e mantidas em sala climatizada (Temp. 25°C±1°C, UR 70±10%, fotofase 12h (luz: escuro)). Foram avaliados o parasitismo, emergência e razão sexual de *T. pretiosum*.

Os experimentos foram feitos em delineamento inteiramente casualizado (DIC). Para os dados referentes ao hospedeiro foi adotado como tratamento cada dieta e estas foram associadas aos parâmetros avaliados, através da análise de variância (ANOVA de 1 fator) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). As análises foram feitas pelo procedimento LSMEANS do software SAS OnDemand for Academics (<https://welcome.oda.sas.com/home>).

2.3. RESULTADOS

2.3.1. EFEITO DE DIFERENTES DIETAS NOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE *Corcyra cephalonica*

Houve efeito das diferentes dietas nos parâmetros biológicos de período ovo-adulto ($F = 34.71$; $df = 6, 63$; $p < 0.0001$), emergência de adultos ($F = 11.87$; $df = 6, 63$; $p < 0.0001$), emergência de fêmeas ($F = 10.11$; $df = 6, 63$; $p < 0.0001$), razão sexual ($F = 3.17$; $df = 6, 63$; $p < 0.008$), longevidade de fêmeas ($F = 2.72$; $df = 6, 63$; $p < 0.0206$), longevidade machos ($F = 13.76$; $df = 6, 63$; $p < 0.0001$) e período total de desenvolvimento de *C. cephalonica* ($F = 49.43$; $df = 6, 63$; $p < 0.0001$). As dietas 4 (germe de trigo torrado + amendoim triturado), 6 (farinha de sorgo + germe de trigo torrado + amendoim triturado) e 7 (farinha de arroz + germe de trigo torrado + amendoim triturado) tiveram menor duração do período ovo-adulto, comparada as demais dietas. A dieta 5, composta por farelo de arroz + sorgo + amendoim, teve a maior duração do período ovo-adulto. A emergência de adultos e fêmeas foi maior nas dietas 1 (germe de trigo torrado + levedo de cerveja), 4 (germe de trigo torrado + amendoim triturado), 6 (farinha de sorgo + germe de trigo torrado + amendoim triturado) e 7 (farinha de arroz + germe de trigo torrado + amendoim triturado), cerca de 90-76% de adultos emergidos e dentre eles cerca de 47-39.5% eram fêmeas de *C. cephalonica*. A dieta 2 (farinha de sorgo + amendoim triturado) teve menor emergência de fêmeas e consequentemente foi a dieta com menor razão sexual comparado as dietas 6 e 7, e estatisticamente igual a razão sexual nas demais dietas. A longevidade de fêmeas foi de 6 a 7 dias, no entanto a maior longevidade

de fêmea, 7.6 dias, foi obtida na dieta 5 comparado a dieta 7. A longevidade de machos foi maior nas dietas 2, 3, 4 e 7. Os machos viveram cerca de 18.2, 15.7, 19.0 e 14.9 dias, respectivamente. O tempo total de desenvolvimento variou de 59.4 a 84.4 dias, sendo a dieta que proporcionou menor tempo de desenvolvimento total foi a dieta 6, seguida pelas dietas 1 e 7. As composições das dietas não afetaram a fecundidade das fêmeas ($F= 0.82$; $df= 6, 63$; $p < 0.5577$).

Tabela 1 – Efeito de diferentes dietas nos parâmetros biológicos de *C. cephalonica* (25±1°C, UV 70±10% e fotofase 12:12)

Tratamentos (Dietas)	Período ovo - adulto (dias)	Adultos emergidos (%)	Fêmeas emergidas (%)	Razão sexual	Fecundidade (ovos/fêmea)	Longevidade de machos (dias)	Longevidade de fêmeas (dias)	Tempo total de desenvolvimento (dias)
1 - Germe de trigo torrado e levedo de cerveja (dieta padrão)	57.90 ± 0.30 d	84.50 ± 3.04 a	39.50 ± 2.87 ab	0.46 ± 0.02 ab	222.30 ± 23.05 a	7.10 ± 0.94 c	6.50 ± 0.25 ab	65.80 ± 0.68 d
2 – Farinha de sorgo e amendoim triturado	66.20 ± 0.19 b	44.00 ± 7.27 c	15.00 ± 4.95 c	0.30 ± 0.08 b	196.80 ± 22.38 a	18.20 ± 0.81 a	7.30 ± 0.38 ab	84.40 ± 0.94 a
3 - Farinha de arroz e farinha de amendoim	60.50 ± 0.43 c	57.00 ± 6.29 bc	25.00 ± 3.32 bc	0.45 ± 0.05 ab	219.70 ± 11.55 a	15.70 ± 1.05 ab	6.90 ± 0.41 ab	76.20 ± 1.16 bc
4 – Germe de trigo torrado e amendoim triturado	51.70 ± 0.49 e	90.50 ± 4.50 a	44.50 ± 4.77 a	0.49 ± 0.05 ab	229.10 ± 43.23 a	19.00 ± 1.26 a	6.50 ± 0.25 ab	70.70 ± 1.46 dc
5- Farinha de sorgo, farinha de arroz e amendoim triturado	66.40 ± 0.40 a	60.00 ± 5.24 bc	25.50 ± 3.04 bc	0.42 ± 0.03 ab	233.80 ± 20.27 a	11.90 ± 1.76 bc	7.60 ± 0.40 a	81.30 ± 1.98 ab
6 – Farinha de sorgo, germe de trigo torrado e amendoim triturado	50.00 ± 0.53 e	89.50 ± 3.42 a	47.00 ± 3.33 a	0.53 ± 0.03 a	278.60 ± 26.55 a	9.40 ± 1.23 c	6.80 ± 0.28 ab	59.40 ± 1.26 e
7 – Farinha de arroz, germe de trigo torrado e amendoim triturado	50.50 ± 0.40 e	76.00 ± 3.86 ab	41.00 ± 2.08 ab	0.55 ± 0.03 a	211.20 ± 31.99 a	14.90 ± 0.53 ab	5.90 ± 0.23 b	65.40 ± 0.60 d
F	34.71	11.87	10.11	3.17	0.82	13.76	2.72	49.43
df	6, 63	6,63	6,63	6,63	6,63	6,63	6,63	6,63
P valor	<.0001	<.0001	<.0001	<0.008	<0.5577	<.0001	<0.0206	<.0001

2.3.2. PARASITISMO DE *Trichogramma pretiosum*

As diferentes composições das dietas de *C. cephalonica* não afetaram o parasitismo de *T. pretiosum* ($F=1.79$; $df= 3,56$; $p <0.159$) (Tabela 2). No entanto, a dieta composta por germe de trigo torrado e levedo de cerveja teve maior viabilidade de *T. pretiosum* comparado a dieta composta por germe de trigo torrado e amendoim triturado e a dieta composta por germe de trigo torrado, farinha de sorgo e amendoim triturado. Mas, quando comparada a dieta que continha germe de trigo torrado, farinha de arroz e amendoim triturado a viabilidade de *T. pretiosum* foi considerada estatisticamente igual ($F=5.99$; $df= 3,56$; $p<0.001$) (Tabela 2).

Tabela 2 - Parasitismo, viabilidade de parasitismo e razão sexual (média $\pm$ erro padrão) de *Trichogramma pretiosum* emergidos de ovos *Corcyra cephalonica* de diferentes dietas

Tratamentos (Dietas)	Parasitismo (%)	Viabilidade do parasitismo (%)	Razão sexual
1- Germe de trigo torrado e levedo de cerveja (Dieta padrão)	27.10 $\pm$ 1.88 a	97.30 $\pm$ 0.84 a	0.55 $\pm$ 0.05 a
2 – Germe de trigo torrado e amendoim triturado	33.10 $\pm$ 2.10 a	91.20 $\pm$ 1.50 b	0.59 $\pm$ 0.06 a
3 – Germe de trigo torrado, farinha de sorgo e amendoim triturado	31.30 $\pm$ 1.17 a	90.90 $\pm$ 1.19 b	0.65 $\pm$ 0.07 a
4 – Germe de trigo torrado, farinha de arroz e amendoim triturado	31.70 $\pm$ 1.48 a	95.10 $\pm$ 0.75 ab	0.61 $\pm$ 0.04 a

Médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não tem diferença estatística pelo teste de Tukey ($p<0.05$).

Não houve diferença significativa na razão sexual entre as diferentes dietas, os parasitoides apresentaram a mesma proporção de macho e fêmea ($F=0.39$; $df=3,56$; $p<0.758$) (Tabela 2).

2.4 DISCUSSÃO

Nossos resultados demonstraram que a composição das dietas influenciou o desenvolvimento de *C. cephalonica*. Foi observado que dietas que havia germe de trigo torrado como um dos ingredientes, tiveram uma maior emergência de adultos e fêmeas (viabilidade de parasitismo). Esses resultados validam a hipótese de que

apesar de *C. cephalonica* ser polífaga, alguns ingredientes não possuem qualidade nutritiva para o bom desenvolvimento desse inseto (VINCENT; SINGH; MATHEW, 2021). Dietas compostas por farinha de sorgo e farinha de arroz, nesse estudo, tiveram uma menor emergência de adultos e fêmeas e dietas que continham germe tiveram uma maior emergência de adultos. No entanto, resultados diferentes foram encontrados por Kumar et al., (2018), que analisando o efeito de diferentes dietas na biologia de *C. cephalonica* relatou que dietas compostas por farinha de sorgo e amendoim triturado tiveram maior emergência (82% de adultos emergidos) e somaram positivamente para o melhor desenvolvimento de parasitoides do gênero *Trichogramma*, assim como dietas compostas de farinha de arroz e amendoim triturado. Essas dietas proporcionaram menor ciclo de desenvolvimento de *C. cephalonica*, melhores condições nutricionais e maior número de ovos produzidos por fêmea. Resultados similares foram encontrados por Jhala et al., (2019) em que dietas a base de sorgo tiveram menor período de desenvolvimento larval, 80% de adultos emergidos e maior longevidade de adultos comparado a dietas que continham trigo.

De forma geral, dietas que contém maiores quantidade de nutrientes, dentre eles proteínas e carboidratos, promove menor tempo de desenvolvimento comparado a dietas com baixa quantidade de nutrientes (LO et al., 2020). É necessário ressaltar que esses resultados podem ter sido alcançados devido as condições de temperatura ao qual foi realizado os estudos (30 a 31.1°C) (KUMAR et al., 2018; JHALA et al., 2019; LO et al., 2020). Pesquisas relatam que *C. cephalonica* pode ter um menor tempo de desenvolvimento e maior produção de ovos quando em temperaturas de 30°C, se alimentando de dietas a base de milho, amendoim e sorgo (MEENA; BHARGAVA, 2010; BHANDARI et al., 2014) e nesse estudo o experimento foi conduzido em temperatura de 25°C para todos os tratamentos.

Como esperado, as dietas de *C. cephalonica* testadas não influenciaram no parasitismo de *T. pretiosum*, mas influenciaram na emergência dos parasitoides pois a composição da dieta do hospedeiro está relacionada a mudanças no desenvolvimento do parasitoide dentro do ovo (FARAHANI et al., 2016). Espécies como *Trichogramma sp.* se desenvolvem adquirindo nutrientes exclusivamente do hospedeiro (CHAPMAN, 1998). Esse resultado sugere que os ingredientes das dietas tiveram influência na nutrição dos ovos de *C. cephalonica* e posteriormente

nos parasitoides de *T. pretiosum*. Alguns parasitoides por mais que iniciasse o desenvolvimento no interior do ovo, não tiveram os nutrientes suficientes para emergirem, pois o ovo do hospedeiro não supriu toda a necessidade nutricional para o desenvolvimento embrionário e larval dos parasitoides (FARAHANI et al., 2016; KUMAR et al., 2018). Quando *C. cephalonica* se alimenta de fonte de nutrientes de qualidade, produzirá parasitoides de ovos maiores e de maior qualidade (NATHAN et al., 2006; MOGHADDASSI et al., 2019).

A dieta que houve maior porcentagem de emergência de *T. pretiosum* é a dieta padrão utilizada para criação de *C. cephalonica* (BERNARDI; HADDAD; PARRA, 2000). Portanto, mediante os resultados alcançados, seria aconselhável a mudança da formulação da dieta já utilizada somente se isso representar algum ganho econômico relacionados a obtenção dos ingredientes, tendo em vista que as demais dietas tiveram desempenho inferior ou igual a dieta já usada tanto com relação ao desenvolvimento de *C. cephalonica* quanto do parasitoide *T. pretiosum*. Estudos como esse são necessários para o conhecimento da ecologia nutricional do hospedeiro e parasitoide, é importante para melhorar a compreensão dessa relação e produzir agentes de controle biológico efetivos no manejo de insetos-pragas.

REFERÊNCIAS

AYYAR, P. N. K. A very destructive pest of stored products in South India, *Corcyra cephalonica*, Stainton (Lep.). **Bulletin of Entomological Research**, v. 25, p.155-69, 1934.

AMADOU et al.; Development of an Optimum Diet for Mass Rearing of the Rice Moth, *Corcyra cephalonica* (Lepidoptera: Pyralidae), and Production of the Parasitoid, *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae), for the Control of Pearl Millet Head Miner. **Journal of Insect Science**, v. 19, n. 2, p. 1-5, 2019.

BENTIVENHA, J. P. F. et al. Intraguild interactions and behavior of *Spodoptera frugiperda* and *Helicoverpa* spp. on maize. **Pest management science**, v. 73, n. 11, p. 2244-2251, 2017.

BERNARDI, E. B.; HADDAD, M. de L.; PARRA, J. R. P.; Comparison of artificial diets for rearing *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865)(Lep., Pyralidae) for *Trichogramma* mass production. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 60, n. 1, p. 45-52, 2000.

BHANDARI, G.; REGMI, R.; SHRESTHA, J.; Effect of different diets on biology of *Corcyra cephalonica* (Stainton) under laboratory condition in Chitwan, Nepal.

International Journal of Applied Sciences and Biotechnology, v. 2, n. 4, p. 585-588, 2014.

CHEN, W. et al., Evaluating the potential of using *Spodoptera litura* eggs for mass-rearing *Telenomus remus*, a promising egg parasitoid of *Spodoptera frugiperda*.

Insects, v. 12, n.5, p. 384, 2021.

CHAPMAN, R. F.; Alimentary Canal, Digestion and Absorption. In: CHAPMAN, R. F. **The insects: structure and function**. Cambridge university press, 1998.

FARAHANI, H. K. et al. The effect of host nutritional quality on multiple components of *Trichogramma brassicae* fitness. **Bulletin of Entomological Research**, v. 106, n. 5, p. 633-641, 2016.

JHALA, J. et al. Biology of (*Corcyra cephalonica*, Stainton) on different host. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 8, n. 5, p. 476-479, 2019.

KAPLAN, E. L.; MEIER, P. Nonparametric estimation from incomplete observations. **Journal of the American statistical association**, v. 53, n. 282, p. 457-481, 1958.

KUMAR et al.; Effect of different diets on the biology of rice moth, *Corcyra cephalonica* (Stainton). **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v.6, n.3, p. 251-254, 2018.

LO, M. et al. Study of the development parameters of *Corcyra cephalonica* (Stainton) according to the type of food substrate. **International Journal of Zoology Studies**, v. 5, n. 1, p. 35-41, 2020.

MOGHADDASSI, Y. et al., Effect of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) Larval Diet on Egg Quality and Parasitism by *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), **Journal of Insect Science**, v.19, n. 4, p. 10, 2019.

MEENA, B. L.; M.C. BHARGAVA, M. C. Influence of temperature and relative humidity on some biological parameters of rice moth, *Corcyra cephalonica* Stainton. **Journal of Insect Science**, v. 23, n.2, p. 160 -165, 2010.

NATHAN, S. S. et al., Effects of Millet, Wheat, Rice, and Sorghum Diets on Development of *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Galleriidae) and Its Suitability as a Host for *Trichogramma chilonis* Ishii (Hymenoptera: Trichogrammatidae), **Environmental Entomology**, v. 35, n. 3, p. 784–788, 2006.

QUEIROZ, A. P. Quality control of *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) reared on the factitious host *Corcyra cephalonica* (Lepidoptera: Pyralidae) for successive generations. **Bulletin of Entomological Research**, v. 107, n. 6, p. 1-8. 2017.

SILVA, C. B. et al., Influence of factitious hosts on the morphometry and diversity of endosymbionts of the egg parasitoid *Telenomus remus*: insights for applied biological control. **Phytoparasitica**, p. 1-12, 2022.

VIEIRA, N. F. et al. Cost of Production of *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) Grown in Natural and Alternative Hosts. **Journal of Economic Entomology**, v. 110, n. 6, p. 2724-2726, 2017.

VINCENT, A.; SINGH, D.; MATHEW, I. L. *Corcyra cephalonica*: A serious pest of stored products or a factitious host of biocontrol agents?. **Journal of Stored Products Research**, v. 94, p. 101876, 2021.

CAPÍTULO 3

EFEITO DA INTERAÇÃO DE *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) E *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) NO PARASITISMO DE OVOS DE *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae)
Carolane Benjamin da Silva; Regiane Cristina de Oliveira.

RESUMO

Trichogramma pretiosum Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) são os mais importantes agentes de controle biológico de *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae). Podem ser utilizados em liberações individuais ou até mesmo as duas espécies em associação. No entanto, a interação de duas espécies que fazem uso dos mesmos recursos pode acarretar competição interespecífica. Sabendo disso, o objetivo desse estudo foi avaliar a interação de *T. remus* com *T. pretiosum* quando parasitando massas de ovos de *S. frugiperda* de forma simultânea e sequencial. Foram realizados experimentos de liberação em laboratório em dois arranjos experimentais: *T. pretiosum* em associação com *T. remus* de forma simultânea, com intervalos de tempo de 24, 48 e 72 horas, *T. pretiosum* liberado sozinho e *T. remus* liberado sozinho. O segundo arranjo experimental consistia na mesma metodologia, no entanto o primeiro parasitoide a parasitar os ovos de *S. frugiperda* era *T. remus* e posteriormente *T. pretiosum*, nos intervalos de tempo acima citados. Fêmeas de *T. pretiosum* e *T. remus* tem maior porcentagem de parasitismo e emergência quando em associação simultânea.

Palavras-chave: competição interespecífica; parasitismo; manejo.

ABSTRACT

Trichogramma pretiosum Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) are the most important biological control agents for *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae). They can be use in individual releases or even the two species in association. However, the interaction of two species that use the same resources can lead to interspecific competition between them. Knowing this, the objective of this study was to evaluate the interaction of *T. remus* with *T. pretiosum* when parasitizing egg masses of *S. frugiperda* when the parasitism occurs simultaneously and sequentially. Release experiments were carried out in the laboratory in two experimental arrangements: *T. pretiosum* in association with *T. remus* simultaneously, with time intervals of 24, 48 and 72 hours, *T. pretiosum* released alone and *T. remus* released alone. The second experimental arrangement consisted of the same methodology, however the first parasitoid to parasitize the eggs of *S. frugiperda* was *T. remus* and later *T. pretiosum*, in the time intervals mentioned above. Females of *T. pretiosum* and *T. remus* have a higher percentage of parasitism and emergence when in simultaneous association.

Keywords: interspecific competition; parasitism; management.

3.1 INTRODUÇÃO

Spodoptera frugiperda J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae), popularmente conhecida como lagarta-do-cartucho, é um inseto-praga que causa danos em diversas culturas de importância econômica (MONTEZANO et al., 2018). Originária das regiões tropicais e subtropicais das Américas, atualmente se encontra espalhada em mais de 40 países da África, em países da Ásia, como por exemplo, Índia, China e Tailândia como também em parte da Oceania (LEE et al., 2020; JIA et al., 2021; KENIS et al., 2022). O fácil estabelecimento e colonização de *S. frugiperda* em novos habitats aliado aos fatores decorrentes do uso frequente e demasiado de pesticidas químicos sintéticos, tornam difícil a eliminação deste inseto-praga (MORENO et al., 2019; DONG et al., 2021).

Com isso, a busca por alternativas sustentáveis de manejo de *S. frugiperda* tem sido crescente. Nos últimos anos, muitos são os estudos acerca de agentes de controle biológicos promissores para o manejo de pragas na agricultura (VARSHNEY et al., 2021). A utilização de vespas parasitoides é uma das estratégias considerada eficiente, durável e ambientalmente correta para a mitigação de pragas invasoras. Existem cerca de 150 inimigos naturais associados a *S. frugiperda*, no qual 64 espécies são da ordem Hymenoptera (MOLINA-OCHOA et al., 2003; KENIS et al., 2022). Dentre eles, os parasitoides de ovos *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) são considerados os mais relevantes no controle de *S. frugiperda* (TEPA-YOTTO et al., 2021).

A utilização de *T. remus* é mais efetiva para o controle das espécies do complexo *Spodoptera* comparado a *T. pretiosum* (CARNEIRO; FERNANDES, 2012). *Telenomus remus* tem maior eficácia de busca e proporção de parasitismo em ovos de *S. frugiperda* e como grande diferencial, tem a mesma proporção de parasitismo em massas de ovos com e sem escamas (CARNEIRO; FERNANDES, 2012; DONG et al., 2021). É um parasitoide estudado para utilização no manejo de *S. frugiperda* nas Américas, e alguns países da África e Ásia (NING et al., 2019; LIAO et al., 2019; WANG et al., 2020; SILVA et al., 2022). Por outro lado, *T. pretiosum* é uma espécie de grande distribuição geográfica. Pode atuar não somente no manejo de *S. frugiperda* mas também no controle de outros lepidópteros-praga (OLIVEIRA et al., 2019; PINTO; FERNANDES, 2020). É um produto consolidado no mercado de

agentes de controle biológico e tem procedimentos de criação massal economicamente viáveis e bem desenvolvidos (PARRA; COELHO, 2022).

No entanto, ambas as espécies possuem limitações: *T. remus* ainda não é um produto disponível no mercado de insumos biológicos, pois a criação desse parasitoide ainda é um desafio. A criação massal em ovos de *S. frugiperda* é economicamente inviável e a viabilidade de hospedeiro alternativo ainda está em fase de estudo (CHEN et al., 2021; SILVA et al., 2022). *Trichogramma pretiosum* parasita significativamente menos quando as massas de ovos de *S. frugiperda* são compostas por camadas sobrepostas e/ou possuem escamas (DONG et al., 2020) e os estudos envolvendo liberações para controle de *S. frugiperda* possuem variação de níveis de eficácia podendo oscilar entre 2 e 70% de parasitismo (JARALEÑO-TENIENTE et al., 2020).

Tendo em vista que ambos possuem muitas qualidades que os tornam promissores agentes de controle biológico de *S. frugiperda*. Uma alternativa viável, seria utilizar essas espécies em associação. Estudos prévios, relatam que *T. remus* e *T. pretiosum* são espécies coexistentes, ao qual pode ocorrer parasitismo de ambos na mesma massa de ovos (SILVA et al., 2015). No entanto, é comum em parasitoides da ordem Hymenoptera haver competição por recursos. A relação de competição interespecífica pelo mesmo hospedeiro pode influenciar diretamente na eficácia dessas espécies quando usadas em programas de controle biológico (LAHEY; MCAUSLANE, STANSLY, 2016). Portanto, esse estudo teve o objetivo de avaliar a interação de *T. remus* com *T. pretiosum* quando parasitando massas de ovos de *S. frugiperda* de forma simultânea e sequencial comparado ao parasitismo individual.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos e as criações de insetos foram conduzidos nos laboratórios do Grupo de Manejo Integrado de Pragas – AGRIMIP, pertencente à Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho/ Faculdade de Ciências Agrônômicas – UNESP/FCA, Campus de Botucatu/SP.

3.2.1. SISTEMA DE CRIAÇÃO DOS INSETOS

Para condução dos experimentos foram utilizadas três linhagens de *T. remus*, a primeira linhagem denominada linhagem BR, e a segunda chamada linhagem

Venezuela foram doadas pelo prof. Dr. Odair Aparecido Fernandes da UNESP/FCAV, Campus de Jaboticabal/ SP. A terceira linhagem de *T. remus* utilizada já era mantida no laboratório AGRIMIP por sucessivas gerações.

As linhagens de *T. remus* foram multiplicadas em ovos de *S. frugiperda*.

A criação de *S. frugiperda* foi feita em dieta artificial (GREENE et al., 1976) até o estágio de pupa. Posteriormente, as pupas foram transferidas para gaiolas feitas de cilindros de policloreto de vinila - PVC (10×21,5 cm). Após a emergência, os adultos foram mantidos em gaiolas semelhantes, porém, revestidas com papel kraft e alimentados com mel diluído a 10%, conforme a metodologia de Bueno et al., (2010). Ovos de *S. frugiperda* (<48h) foram coletados e ofertados para os parasitoides seguindo os procedimentos de criação e manutenção de *T. remus* descritos por Silva et al., (2022).

Para a criação de *T. pretiosum* foi utilizado como hospedeiro, *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), multiplicado conforme a metodologia de Parra et al., (2014). Para multiplicação de *T. pretiosum*, ovos de *A. kuehniella* foram colados, com cola branca atóxica, em cartelas de papel sulfite (15×11cm) e inviabilizados por luz UV em câmara de fluxo vertical, por 45 minutos. Posteriormente, as cartelas foram ofertadas aos parasitoides recém-emergidos, em potes plásticos transparentes (2.5L). Para alimentação dos parasitoides foi ofertado filetes de mel na lateral interna de cada pote. Depois de 48h de parasitismo, as cartelas foram retiradas e adicionadas a outro pote de plástico, no qual permaneceram até a emergência da próxima geração de parasitoides. Todas as espécies foram mantidas em salas climatizadas (25±1°C; UR 70±10% e fotofase 12h).

3.2.2. COMPETIÇÃO INTERESPECÍFICA ENTRE *T. remus* e *T. pretiosum* NO PARASITISMO DE OVOS DE *S. frugiperda*, EM DIFERENTES INTERVALOS DE TEMPO

Foram elaborados dois experimentos, ao qual representava dois esquemas experimentais. No primeiro esquema experimental, para cada linhagem de *T. remus*, era avaliado: T1: Parasitismo individual de *T. remus*; T2: Parasitismo simultâneo de *T. remus* com *T. pretiosum*; T3: Parasitismo de *T. remus* e após 24h parasitismo por *T. pretiosum*; T4: Parasitismo de *T. remus* e após 48h parasitismo por *T. pretiosum*; T5: Parasitismo de *T. remus* e após 72h parasitismo por *T. pretiosum*; cada tratamento tinha 20 repetições.

O segundo esquema experimental avaliava: T1: Parasitismo individual de *T. pretiosum*; T2: Parasitismo simultâneo de *T. remus* com *T. pretiosum*; T3: Parasitismo de *T. pretiosum* e após 24h parasitismo por *T. remus*; T4: Parasitismo de *T. pretiosum* e após 48h parasitismo por *T. remus*; T5: Parasitismo de *T. pretiosum* e após 72h parasitismo por *T. remus*; os tratamentos que continham *T. remus* foram montados um tratamento para cada linhagem de *T. remus*.

Os intervalos de tempo escolhidos foram relacionados ao desenvolvimento do parasitoide dentro do ovo do hospedeiro, correspondendo ao período larval de *T. remus* (CHEN et al., 2021).

Para obtenção dos parasitoides de acordo com cada tratamento foram individualizadas, em tubo de vidro (8.5×2.5cm), uma fêmea de cada espécie/linhagem de parasitoide. Todas as fêmeas recém-emergidas (<48h), copuladas e alimentadas. Em cada tubo de vidro foi adicionado uma cartela (7×2.5cm) contendo cerca de 20 a 30 ovos de *S. frugiperda*/ cartela e permitido o parasitismo das fêmeas por 24h. Foram utilizadas 20 repetições para cada espécie/linhagem.

Para os tratamentos que envolveram parasitismo sequencial, cartelas contendo massa de ovos de *S. frugiperda* frescos (<24h) (20-30 ovos/cartela) foram ofertadas à fêmeas de *T. remus* recém-emergidas, copuladas e previamente alimentadas, individualizadas em tubo de vidro (8.5×2.5cm) e permitido o parasitismo por 24h. Após 24h, 48h e 72h do parasitismo por *T. remus*, as cartelas foram ofertadas para fêmeas de *T. pretiosum*, nas mesmas condições que as fêmeas de *T. remus*, e permitido o parasitismo por 24h. Após 24h de parasitismo, as fêmeas foram retiradas e as cartelas observadas diariamente para remoção de lagartas de *S. frugiperda* e posteriormente avaliação dos parâmetros de porcentagem de parasitismo [%parasitismo = nº de ovos parasitados*100/ ovos totais], porcentagem de emergência [%emergência = nº de ovos com orifício de saída de parasitoide* 100/ ovos totais], quantidade e razão sexual de parasitoide/ espécie emergidos [razão sexual = nº de fêmeas/ (nº de machos + nº de fêmeas)].

Todos os experimentos foram conduzidos em sala climatizada, com temperaturas de 25±1°C; UR 70±10% e fotofase 12h.

3.2.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

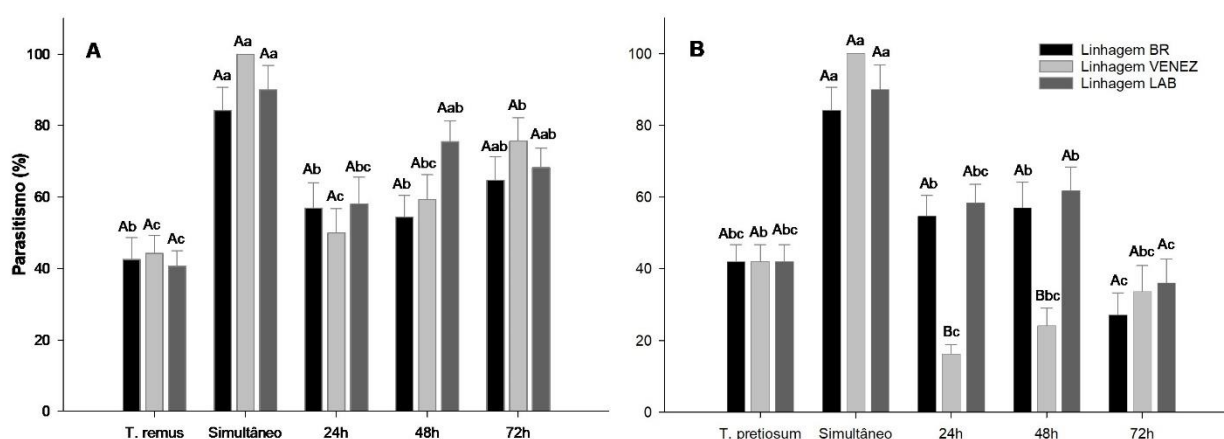
Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado (DIC), os dados foram avaliados de acordo com cada esquema experimental, sendo analisado dois conjuntos de dados, relacionando as linhagens de *T. remus*/ população de *T. pretiosum* com os intervalos de parasitismo. Os dados foram submetidos ao teste de variância (ANOVA) e quando significativos feito a comparação de médias pelo teste de Tukey ($p < 0.05$) usando o PROC LSMEANS, no software SAS OnDemand (<https://welcome.oda.sas.com>). Para construção dos gráficos foi utilizado o software Sigmaplot 15.0.

3.3. RESULTADOS

3.3.1. COMPETIÇÃO INTERESPECÍFICA ENTRE *T. remus* E *T. pretiosum* NO PARASITISMO DE OVOS DE *S. frugiperda*, EM DIFERENTES INTERVALOS DE TEMPO

O parasitismo de ovos de *S. frugiperda* por *T. remus* e *T. pretiosum* foi significativamente afetado pela interação entre as duas espécies de parasitoides. A porcentagem de ovos de *S. frugiperda* parasitados foi maior quando o parasitismo de *T. remus* e *T. pretiosum* ocorreram de forma simultânea, para linhagem de *T. remus* VENEZ, nos dois arranjos sequenciais de parasitismo ($F=15.63$; $df= 4.95$; $p < 0.0001$ - $F= 51.89$; $df= 4.95$; $p < 0.0001$) (Figura 1AB). Na linhagem BR, o parasitismo foi mais expressivo quando ocorreu de forma simultânea nos dois arranjos sequenciais de parasitismo ($F= 5.67$; $df= 4.95$; $p < 0.0004$ - $F= 12.07$; $df= 4.95$; $p < 0.0001$) (Figura 1AB) ou quando parasitado previamente por *T. remus* e posteriormente por *T. pretiosum*, após 72h ($F= 5.67$; $df= 4.95$; $p < 0.0004$) (Figura 1A). Já a linhagem LAB, o parasitismo maior ocorreu quando usado as duas espécies de forma simultânea, em ambos os arranjos experimentais de parasitismo (Figura 1AB) ($F= 9.21$; $df= 4.95$; $p < 0.0001$ - $F= 12.03$; $df= 4.95$; $p < 0.0001$) e quando parasitado primeiro por *T. remus* e posteriormente parasitado por *T. pretiosum* após 48h e 72h ($F= 9.21$; $df= 4.95$; $p < 0.0001$) (Figura 1A).

Figura 1 - Parasitismo (média $\pm$ erro padrão) de ovos de *Spodoptera frugiperda* por linhagens de *Telenomus remus* (*T. remus*), *Trichogramma pretiosum* (*T. pretiosum*), parasitados por ambos (Simultâneo), e parasitados pelas duas espécies em sucessão. Primeiro por *T. remus* e posteriormente por *T. pretiosum* em intervalos de tempo de 24, 48 e 72 horas (A) e parasitados primeiro por *T. pretiosum* e posteriormente por *T. remus* em intervalos de tempo de 24, 48 e 72 horas (B).

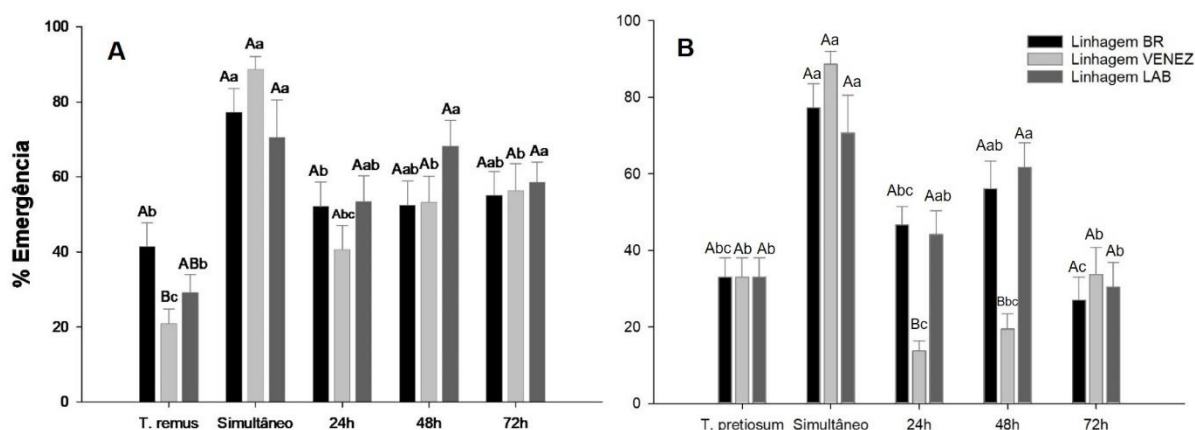


Médias com a mesma letra maiúscula, no mesmo intervalo de parasitismo, não possui diferença estatística pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). Médias com a mesma letra minúscula, na mesma linhagem, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0.05$).

A emergência de parasitoides foi menor comparada à quantidade de ovos parasitados e houve diferença na emergência entre os intervalos de tempo, em ambos os arranjos experimentais (Figura 2AB). A emergência maior ocorreu quando os parasitoides estavam em associação. Na linhagem BR, tiveram maior emergência quando os parasitoides estavam associados de forma simultânea, em intervalos de 48h e 72h, no primeiro arranjo experimental ($F = 4.23$; $df = 4, 95$; $p < 0.0034$) (Figura 2A) e em associação simultânea e em intervalos de 48h quando o parasitismo era efetuado primeiro por *T. pretiosum* e posteriormente por *T. remus* ($F = 10.82$; $df = 4, 95$; $p < .0001$) (Figura 2B). Para linhagem VENEZ, a maior viabilidade de parasitismo ocorreu apenas quando os parasitoides estavam parasitando simultaneamente, nos dois arranjos experimentais ($F = 18.17$; $df = 4, 95$; $p < .0001$ – $F = 38.35$; $df = 4, 95$; $p < .0001$) (Figura 2AB). Na linhagem LAB, a viabilidade de parasitismo não foi influenciada pelos intervalos de parasitismo, sendo as médias estatisticamente iguais no primeiro arranjo experimental, diferindo apenas de *T. remus* e *T. pretiosum*

parasitando sozinhos ($F=5.60$; $df= 4, 95$; $p< 0.0004$) (Figura 2A). No segundo arranjo experimental, a associação entre parasitoides de forma simultânea e sequencial no intervalo de 24h e 48h apresentaram maior porcentagem de emergência de parasitoides ($F= 6.14$; $df= 4, 95$; $p< 0.0002$) (Figura 2B).

Figura 2 - Emergência (média $\pm$ erro padrão) em ovos de *Spodoptera frugiperda* de linhagens de *Telenomus remus* (*T. remus*), *Trichogramma pretiosum* (*T. pretiosum*), parasitados por ambos (Simultâneo), e parasitados pelas duas espécies em sucessão. Primeiro por *T. remus* e posteriormente por *T. pretiosum* em intervalos de tempo de 24, 48 e 72 horas (A) e parasitados primeiro por *T. pretiosum* e posteriormente por *T. remus* em intervalos de tempo de 24, 48 e 72 horas (B).

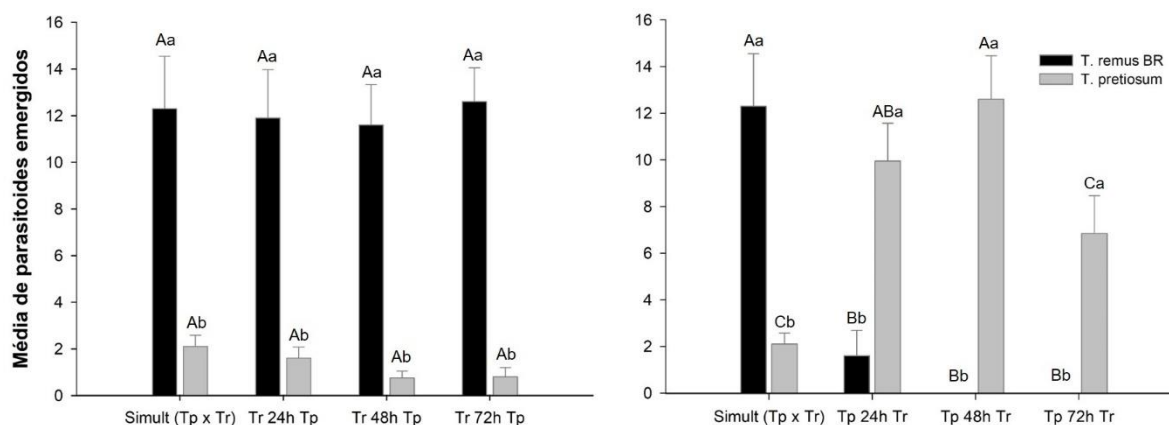


Médias com a mesma letra maiúscula, no mesmo intervalo de parasitismo, não possui diferença estatística pelo teste de Tukey ($p<0.05$). Médias com a mesma letra minúscula, na mesma linhagem, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p<0.05$).

A emergência entre linhagens, em cada intervalo de parasitismo, somente houve diferença quando *T. remus* de cada população efetuava o parasitismo de ovos de *S. frugiperda* sozinho. *T. remus* da linhagem VENEZ teve emergência menor comparado com a linhagem BR e LAB, no primeiro arranjo experimental ($F= 4.23$; $df= 2, 57$; $p< 0.0193$) (Figura 2A). No segundo arranjo experimental, nos intervalos de 24h e 48h as linhagens BR e LAB responderam de forma semelhante e a linhagem VENEZ teve baixa porcentagem de emergência ($F= 13.90$; $df= 2, 57$; $p< .0001$ – $F= 13.63$; $df= 2, 57$; $p< .0001$) (Figura 2B).

Houve diferença significativa na média de *T. remus* e *T. pretiosum* emergidos por arranjo experimental e intervalos de parasitismo entre espécie, para todas as linhagens de *T. remus* avaliadas. Na linhagem de *T. remus* BR, quando o parasitismo ocorreu de forma simultânea, houve emergência de parasitoides das duas espécies, sendo que *T. remus* linhagem BR predominante ($F= 19.80$; $df= 1,38$; $p < .0001$) (Figura 3AB). No arranjo experimental que foi permitido primeiro o parasitismo de *T. remus* BR e posteriormente *T. pretiosum* (Figura 3A), observa-se que em todos os intervalos (24, 48 e 72 horas) *T. remus* linhagem BR foi a espécie que teve maior quantidade de parasitoides emergidos comparado a *T. pretiosum* ($F=23.43$; $df= 1,38$; $p < .0001$ – $F= 37.45$; $df= 1,38$; $p < .0001$ – $F= 60.96$; $df= 1,38$; $p < .0001$). Não houve diferença estatística entre a média de *T. remus* linhagem BR emergidos por tratamento ($F= 0.06$; $df= 3, 76$; $p < 0.9828$).

Figura 3 – Parasitoides de *Telenomus remus* linhagem BR e *Trichogramma pretiosum* emergidos (média $\pm$ erro padrão) de ovos de *S. frugiperda* parasitados simultaneamente, com intervalos de 24, 48 e 72h. (A) Parasitismo efetuado primeiro por *T. remus* linhagem BR e posteriormente por *T. pretiosum* em intervalos de tempo de 24, 48 e 72 horas e parasitados primeiro por *T. pretiosum* e posteriormente por *T. remus* linhagem BR em intervalos de tempo de 24, 48 e 72 horas (B).



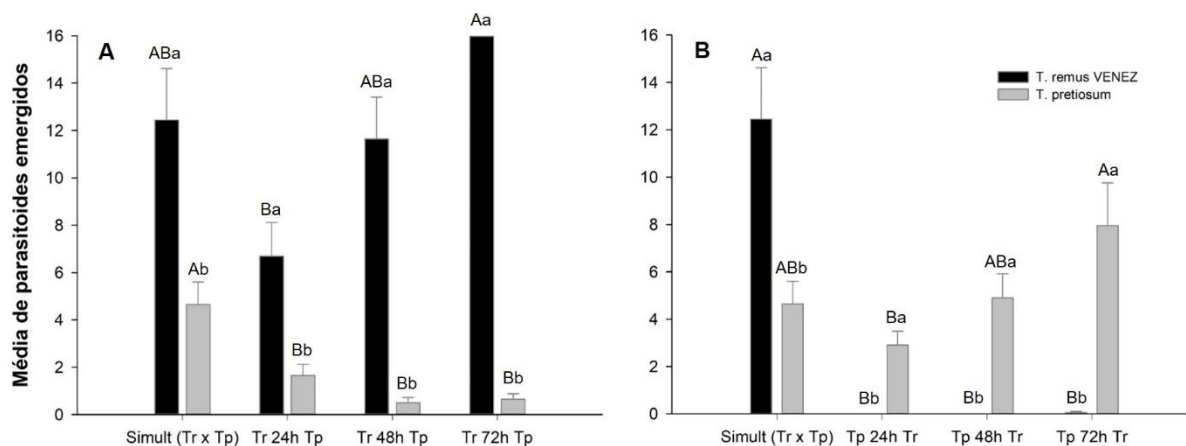
Médias com a mesma letra maiúscula, na mesma espécie, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). Médias com a mesma letra minúscula, no mesmo intervalo de parasitismo, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0.05$).

No arranjo experimental em que o parasitismo foi efetuado primeiro por *T. pretiosum* e posteriormente por *T. remus* linhagem BR (Figura 3B). No intervalo de 24h, houve emergência de parasitoides das duas espécies, com predominância de *T. pretiosum* ($F=18.17$; $df= 1,38$; $p < 0.0001$). Nos intervalos de parasitismo de 48 e

72h, não houve emergência de *T. remus* linhagem BR, somente emergiram *T. pretiosum* ($F=45.33$; $df= 1,38$; $p <.0001$ – $F= 17.71$; $df= 1,38$; $p < 0.0002$) (Figura 3B). A emergência de *T. pretiosum* foi significativamente maior nos intervalos de 24 e 48h ($F=9.02$; $df= 3,76$; $p<.0001$). Já a emergência de *T. remus* linhagem BR foi significativamente maior quando em associação simultânea ($F=22.64$; $df= 3,76$; $p <.0001$) (Figura 3B).

Na linhagem *T. remus* VENEZ foi observado que no arranjo experimental em que o parasitismo de *T. remus* linhagem VENEZ parasitava primeiro e posteriormente ocorria o parasitismo de *T. pretiosum* (Figura 4A), no parasitismo simultâneo, houve emergência de parasitoides das duas espécies ($F=10.87$; $df= 1, 38$; $p < 0.002$), mas a média de *T. remus* linhagem VENEZ emergidos foi maior do que *T. pretiosum*. No intervalo de 24h, houve emergência de *T. remus* e *T. pretiosum*, a proporção de *T. remus* linhagem VENEZ foi significativamente maior ($F= 11.47$; $df= 1, 38$; $p < 0.001$). Em intervalo de 48h entre parasitismo ($F= 39.65$; $df= 1, 38$; $p <.0001$) e 72h ($F=42.94$; $df = 1, 38$; $p <.0001$) também houve emergência de parasitoides de ambas as espécies, mas prevaleceu o parasitismo de *T. remus* linhagem VENEZ (Figura 4A). Analisando a distribuição de espécie por tratamento, observa-se que a média de parasitoides de *T. remus* foi maior quando o parasitismo de *T. pretiosum* ocorreu após 72h do parasitismo de *T. remus* linhagem VENEZ, no entanto é estatisticamente igual quando em associação simultânea e em intervalo de 48h de parasitismo ($F= 3.92$; $df= 3, 76$; $p < 0.011$). Já a média de parasitoides de *T. pretiosum* emergidos, entre tratamentos, foi maior quando o parasitismo ocorreu de forma simultânea com *T. remus* linhagem VENEZ ($F= 12.10$; $df = 3, 76$; $p <.0001$) (Figura 4A).

Figura 4 – Parasitoides de *Telenomus remus* linhagem VENEZ e *Trichogramma pretiosum* emergidos (média $\pm$ erro padrão) de ovos de *S. frugiperda* parasitados simultaneamente, com intervalos de 24, 48 e 72h. (A) Parasitismo efetuado primeiro por *T. remus* linhagem VENEZ e posteriormente por *T. pretiosum* em intervalos de tempo de 24, 48 e 72 horas e parasitados primeiro por *T. pretiosum* e posteriormente por *T. remus* linhagem VENEZ em intervalos de tempo de 24, 48 e 72 horas (B).



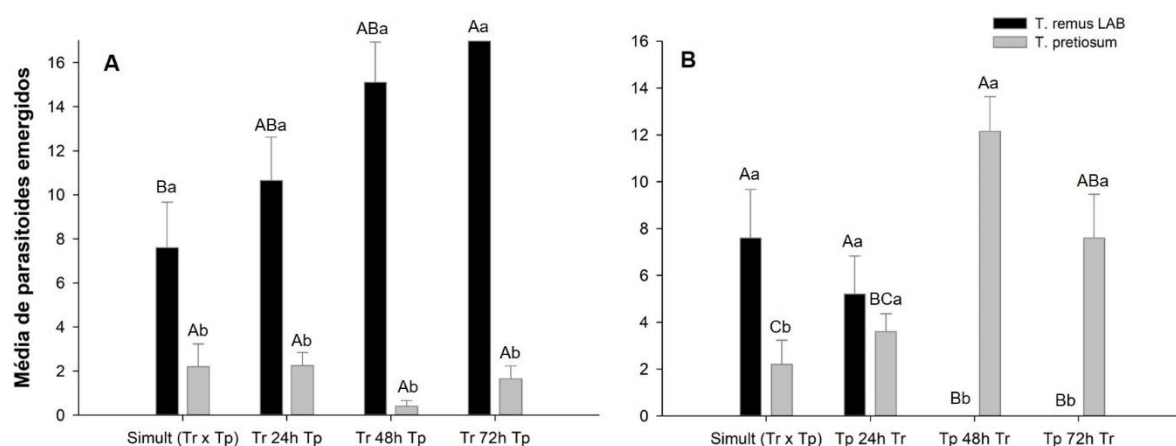
Médias com a mesma letra maiúscula, na mesma espécie, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). Médias com a mesma letra minúscula, no mesmo tratamento, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0.05$).

No arranjo experimental de parasitismo de *T. pretiosum* e posteriormente *T. remus* linhagem VENEZ (Figura 4B), houve emergência de parasitoides das duas espécies quando o parasitismo ocorreu de forma simultânea, no qual predominou a emergência de *T. remus* linhagem VENEZ ($F=10.87$; $df= 1, 38$; $p < 0.002$). Nos intervalos de 24, 48 e 72h somente emergiram parasitoides de *T. pretiosum* ($F= 24.25$; $df= 1,38$; $p < .0001$ – $F= 23.05$; $df= 1,38$; $p < .0001$ – $F= 19.00$; $df= 1,38$; $p < .0001$). O intervalo de tempo que houve maior média de emergência de *T. pretiosum* foi quando o parasitismo por *T. remus* foi permitido somente depois de 72h do parasitismo de *T. pretiosum*, no entanto o resultado foi estatisticamente igual comparado a média de *T. pretiosum* emergidos em associação simultânea e intervalo de 48h entre parasitismo ($F= 3.16$; $df= 3,76$; $p < 0.029$).

No experimento utilizando a linhagem de *T. remus* LAB, no primeiro arranjo experimental (Figura 5A) a média de parasitoides emergidos de *T. remus* LAB foi significativamente maior que *T. pretiosum*. Quando o parasitismo ocorreu de forma simultânea houve emergência das duas espécies, predominando a emergência de

parasitoides de *T. remus* linhagem LAB ($F = 5.46$; $df = 1, 38$; $p < 0.024$). No tratamento de parasitismo de *T. remus* linhagem LAB e posteriormente parasitismo de *T. pretiosum* após 24h, emergiram parasitoides das duas espécies, com maior média de parasitoides emergidos de *T. remus* linhagem LAB ($F = 16.63$; $df = 1, 38$; $p < 0.0002$). Nos intervalos de 48 e 72h, os resultados foram similares, houve emergência das duas espécies, mas uma maior média de *T. remus* linhagem LAB nos dois tratamentos ($F = 62.56$; $df = 1, 38$; $p < .0001$ – $F = 46.67$; $df = 1, 38$; $p < .0001$) (Figura 5A). Comparando a média de parasitoides emergidos de cada espécie entre tratamentos, a média de *T. remus* linhagem LAB emergido foi maior no tratamento de intervalo de 72h, e estatisticamente igual a média de *T. remus* linhagem LAB emergidas nos tratamentos de 48 e 72 horas de intervalo para o parasitismo de *T. pretiosum* ($F = 4.74$; $df = 3, 76$; $p < 0.0044$). A média de *T. pretiosum* emergida foi estatisticamente igual entre tratamentos ($F = 1.64$; $df = 3, 76$; $p < 0.1881$) (Figura 5A).

Figura 5 – Parasitoides de *Telenomus remus* linhagem LAB e *Trichogramma pretiosum* emergidos (média $\pm$ erro padrão) de ovos de *S. frugiperda* parasitados simultaneamente, com intervalos de 24, 48 e 72h. (A) Parasitismo efetuado primeiro por *T. remus* linhagem LAB e posteriormente por *T. pretiosum* em intervalos de tempo de 24, 48 e 72 horas e parasitados primeiro por *T. pretiosum* e posteriormente por *T. remus* linhagem LAB em intervalos de tempo de 24, 48 e 72 horas (B).



Médias com a mesma letra maiúscula, na mesma espécie, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). Médias com a mesma letra minúscula, no mesmo tratamento, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0.05$).

No segundo arranjo experimental, em que o parasitismo efetuado primeiro foi de *T. pretiosum* e posteriormente *T. remus* linhagem LAB (Figura 5B), quando em intervalo de 24h, houve emergência das duas espécies de parasitoides, sendo a

média de parasitismo emergidos estatisticamente iguais ($F= 0.79$; $df= 1, 38$; $p < 0.3794$). Nos intervalos de 48h e 72h, não houve emergência de *T. remus* linhagem LAB, predominando assim a emergência de *T. pretiosum* ($F= 66.90$; $df= 1, 38$; $p < .0001$ – $F= 16.47$; $df= 1, 38$; $p < 0.0002$). Comparando a média de parasitoides emergidos de cada espécie, entre tratamentos, a emergência de *T. remus* linhagem LAB foi estatisticamente igual quando em parasitismo de associação simultânea e depois de 24h do parasitismo de *T. pretiosum* ($F= 8.42$; $df= 3, 76$; $p < .0001$) (Figura 5B). A média de *T. pretiosum* emergidos entre tratamentos foi maior no intervalo de 48h para o parasitismo de *T. remus* linhagem LAB e estatisticamente igual ao tratamento com intervalo de 72h ($F= 10.89$; $df= 3, 76$; $p < .0001$) (Figura 5B).

3.4. DISCUSSÃO

Parasitoides de *T. remus* e *T. pretiosum* conseguiram parasitar a mesma massa de ovos de *S. frugiperda* e, posteriormente, houve emergência de ambos. No entanto, o tempo de liberação dessas duas espécies influenciou na interação desses parasitoides em ovos de *S. frugiperda*. Dependendo da dinâmica de associação uma espécie pode excluir a outra. Nossos resultados mostraram que a combinação simultânea de *T. pretiosum* e *T. remus* foi benéfica no manejo de *S. frugiperda*. A associação simultânea proporcionou um efeito aditivo no parasitismo de ovos de *S. frugiperda* comparado ao parasitismo isolado e com intervalos de tempo. O parasitoide que teve maior emergência foi *T. remus*, fato que já era esperado pois o parasitismo de *T. remus* em ovos de *S. frugiperda* é considerado superior ao parasitismo de *T. pretiosum* (QUEIROZ et al., 2017). O parasitismo pode ter sido maior quando em associação simultânea, devido ser a condição em que os ovos de *S. frugiperda* estavam mais novos, e os parasitoides tem preferência por ovos frescos de idade inferior a 48h de idade.

Quando o parasitismo ocorreu após 24h e sob o parasitismo de outra espécie, a segunda espécie não parasitava, ou o parasitismo era mínimo. Mi et al., (2021), testando a capacidade interespecífica entre *Trissolcus japonicus* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae) e *Anastatus japonicus* Ashmead (Hymenoptera: Eupelmidae), parasitando ovos de *Halyomorpha haly* Stal (Hemiptera: Pentatomidae) concluiu que ambos conseguiam parasitar ovos do hospedeiro mesmo estando parasitado, mas o desenvolvimento da espécie dependia da ordem de parasitismo. No caso de *T. remus*, sabe-se que em caso de superparasitismo

(parasitismo efetuado por mais de uma fêmea da mesma espécie, no mesmo hospedeiro), as larvas competem entre si dentro do ovo do hospedeiro, permanecendo apenas uma larva por ovo (CAVE, 2000). Uma hipótese que pode explicar o porquê de haver mais parasitoides da espécie de *T. remus* do que *T. pretiosum* quando o parasitismo ocorreu de forma simultânea é também ocorrer a mesma competição intrínseca em caso de multiparasitismo.

Carneiro e Fernandes (2012), estudaram a interação interespecífica entre *T. remus* e *T. pretiosum*, seus resultados mostram que quando *T. remus* parasitava primeiro e posteriormente *T. pretiosum*, não havia nenhuma emergência de *T. pretiosum* e vice-versa. Nossos resultados foram diferentes. Mesmo que em menor quantidade, mas quando *T. remus* foi o primeiro parasitoide a efetuar parasitismo houve emergência de *T. pretiosum* em todos os intervalos de tempo de parasitismo. No entanto, quando o parasitismo de *T. pretiosum* foi efetuado primeiro e depois permitido o parasitismo por *T. remus*, houve emergência de *T. remus* somente no intervalo de 24h.

Espécies de Trichogrammatidae podem fazer marcações químicas internas ou externas nos ovos dos hospedeiros, o que poderiam inibir outras espécies de efetuar parasitismo (VINSON, 1997). Cave (2000) também relata que fêmeas de *T. remus* fazem marcação nos ovos dos hospedeiros para evitar multiparasitismo. Uma hipótese do que pode ter ocorrido é a fêmea da primeira espécie de parasitoide não ter parasitado todos os ovos do hospedeiro, possibilitando assim a segunda espécie de parasitoide de efetuar parasitismo.

Telenomus remus e *T. pretiosum* são espécies que podem ser utilizadas em conjunto no manejo de *S. frugiperda*, pois juntas podem parasitar cerca de 80 – 90% de ovos. O ideal seria a utilização em liberações simultâneas, no entanto como esse estudo foi feito na proporção 1:1, o próximo passo seria fazer um estudo para quantificar e estabelecer a melhor dose de liberação dessas duas espécies de forma combinada.

REFERÊNCIAS

BUENO, R. C. O. F. et al. Parasitism Capacity of *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) on *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) Eggs. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.53, n. 1, p. 133-139, jan./fev. 2010.

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

CARNEIRO, T. R.; FERNANDES, O. A.; Interspecific interaction between *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) and *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs. **Anais Da Academia Brasileira de Ciências**, v. 84, n. 4, p.1127–1135, dez. 2012.

CHEN, W. et al., Evaluating the potential of using *Spodoptera litura* eggs for mass-rearing *Telenomus remus*, a promising egg parasitoid of *Spodoptera frugiperda*. **Insects**, v. 12, n.5, p. 384, 2021.

DONG, H. et al., Morphological defense of the egg mass of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) affects parasitic capacity and alters behaviors of egg parasitoid wasps. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 24, n.3, 671-678. 2021

GREENE, G. L.; LEPLA, N. C.; DICKERSON, W. A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology**, v. 69, 487–488, 1976.

JARALEÑO-TENIENTE, J. et al., Egg Parasitoids Survey of *Spodoptera frugiperda*(Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) in Maize and Sorghum in Central Mexico. **Insects** , v. 11, n. 3, p. 157, 2020.

JIA, H. R. et al., Migration of invasive *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) across the Bohai Sea in northern China. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 20, n.3, 685-693. 2021.

KENIS, M. et al., Invasiveness, biology, ecology, and management of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. **Entomologia Generalis**, 2022.

LAHEY, Z. J.; MCAUSLANE, H. J.; STANSLY, P. A. Interspecific competition between two exotic parasitoids (Hymenoptera: Aphelinidae) of an invasive *Bemisia tabaci* species (Hemiptera: Aleyrodidae). **Florida Entomologist**, v. 99, n. 3, p. 535-540, 2016.

LIAO, Y. L. et al. First report of *Telenomus remus* parasitizing *Spodoptera frugiperda* and its field parasitism in southern China. **Journal of Hymenoptera Research**, v. 73, p. 95-102, 2019.

LEE, G-S et al. First report of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797)(Lepidoptera, Noctuidae), a new migratory pest in Korea. **Korean journal of applied entomology**, v. 59, n. 1, p. 73-78, 2020.

MI, Q. et al. Fitness and interspecific competition of *Trissolcus japonicus* and *Anastatus japonicus*, egg parasitoids of *Halyomorpha halys*. **Biological Control**, v. 152, p. 104461, 2021.

MOLINA-OCHOA, J. et al. Parasitoids and parasites of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas and Caribbean Basin: an inventory. **Florida Entomologist**, v. 86, n. 3, p. 254-289, 2003.

MONTEZANO, D. G. et al., Host plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas. **African Entomology**, v. 26, n.2, p. 286-300, 2018.

MORENO, R. G. et al., Field-evolved resistance of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to synthetic insecticides in Puerto Rico and Mexico. **Journal of Economic Entomology**, v.112, n. 2, p. 792-802, 2019.

NING, S. F. et al., Five Parasitic Natural Enemies of *Spodoptera frugiperda* and Two Hyperparasitoids of *Cotesia Glomerata* Were Found in Southeast of Guizhou Province. **Plant Protection**, v. 45, n.6, 39-42, 2019.

OLIVEIRA, R. C. M. et al., Natural parasitism of *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in *Neoleucinodes elegantalis* (Lepidoptera: Crambidae) eggs on tomato (Solanales: Solanaceae) in the Northeast region, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 80, p. 474-475. 2019

PARRA, J.R.P.; COELHO, A., JR. Insect Rearing Techniques for Biological Control Programs, a Component of Sustainable Agriculture in Brazil. **Insects**, v. 13, p. 105, 2022.

PARRA, J. R. P. et al., Criação de *Anagasta kuehniella*, em pequena escala, para produção de *Trichogramma*, Piracicaba, SP, Ed. Occasio, 1ed., 2014

PINTO, J. R. L., FERNANDES, O. A. Parasitism capacity of *Telenomus remus* and *Trichogramma pretiosum* on eggs of moth pests of peanut. **Bulletin of Insectology**, v. 73, p. 71-78. 2020.

QUEIROZ, A. P. Quality control of *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) reared on the factitious host *Corcyra cephalonica* (Lepidoptera: Pyralidae) for successive generations. **Bulletin of Entomological Research**, v. 107, n. 6, p. 1-8. 2017.

SILVA, C. B. et al., Influence of factitious hosts on the morphometry and diversity of endosymbionts of the egg parasitoid *Telenomus remus*: insights for applied biological control. **Phytoparasitica**, p. 1-12. 2022.

SILVA, C. S. B. et al. Evidence of exploitative competition among egg parasitoids of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in maize. **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 41, n. 2, p. 184-186, 2015.

TEPA-YOTTO, G. T. et al. Global habitat suitability of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera, Noctuidae): Key parasitoids considered for its biological control. **Insects**, v. 12, n. 4, p. 273, 2021.

VINSON S. B. Comportamento de seleção hospedeira de parasitóides de ovos, com ênfase na família Trichogrammatidae. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A (Eds), Trichogramma e o controle biológico aplicado. Piracicaba: FEALQ, p. 67-120, 1997.

VARSHNEY, R. et al., Manejo baseado em biocontrole da lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho indiano. **Journal of Plant Diseases and Protection**, n. 128, p. 87–95, 2021.

WANG, R. et al. Potential distribution of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) in China and the major factors influencing distribution. **Global Ecology and Conservation**, v. 21, p. e00865, 2020.

CAPÍTULO 4

LIBERAÇÃO COMBINADA DE *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) E *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO E SEMI-CAMPO

Carolane Benjamin da Silva; Regiane Cristina de Oliveira.

RESUMO

A associação de duas ou mais espécies de parasitoides no manejo de um inseto-praga é uma tática comum em programas de controle biológico. No entanto, os efeitos benéficos e aditivos das espécies em associação devem ser estudados. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi realizar a liberação combinada de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) em condições de laboratório e semi-campo a fim de determinar a melhor forma de associação dessas duas espécies no controle de *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae). Foram realizados dois experimentos, em condições de laboratório e semi- campo. Cada experimento composto por sete tratamentos: T1 – 10 *T. pretiosum*; T2 – 8 *T. pretiosum* + 2 *T. remus*; T3 – 6 *T. pretiosum* + 4 *T. remus*; T4 – 4 *T. pretiosum* + 8 *T. remus*; T5 – 2 *T. pretiosum* + 8 *T. remus*; T6 – 10 *T. pretiosum* + 10 *T. remus*; T7 – 10 *T. remus*. Em condições de laboratório não houve diferença de parasitismo entre tratamentos. Em condições de semi-campo houve maior parasitismo e emergência quando as espécies estavam em associação de 8 *T. pretiosum* + 2 *T. remus* ou 10 *T. pretiosum* + 10 *T. remus*. No entanto, o parasitismo máximo alcançado foi de 70% dos ovos parasitados. Em ambos os experimentos a espécie que teve maior proporção de emergência foi *T. remus*. A associação de *T. remus* com *T. pretiosum* promoveu adição no parasitismo de ovos de *S. frugiperda*, porém a real necessidade de integração desses parasitoides precisa ser avaliada.

Palavras-chave: endoparasitoides; coexistência; ocorrência natural.

ABSTRACT

The association of two or more species of parasitoids in the management of an insect pest is a common tactic in biological control programs. However, the beneficial and additive effects of species in association must be studied. Based on this, the objective of this study is to carry out the combined release of *Trichogramma pretiosum* and *Telenomus remus* under laboratory and semi-field conditions in order to determine the best form of association of these two species in the control of *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae) . Two experiments were carried out, in laboratory and semi-field conditions. Each experiment consists of seven treatments: T1 – 10 *T. pretiosum*; T2 – 8 *T. pretiosum* + 2 *T. remus*; T3 – 6 *T. pretiosum* + 4 *T. remus*; T4 – 4 *T. pretiosum* + 8 *T. remus*; T5 – 2 *T. pretiosum* + 8 *T. remus*; T6 – 10 *T. pretiosum* + 10 *T. remus*; T7 – 10 *T. remus*. Under laboratory conditions, there was no difference in parasitism between treatments. In semi-field conditions there was greater parasitism and emergence when the species were in association with 8 *T. pretiosum* + 2 *T. remus* or 10 *T. pretiosum* + 10 *T. remus*, however the maximum parasitism reached was 70% of the eggs parasitized. In both experiments, the species with the highest emergence rate was *T. remus*. The association of *T. remus* with *T. pretiosum* promotes addition in the parasitism of *S. frugiperda* eggs, but the real need for integration of these parasitoids needs to be evaluated.

Key words: endoparasitoids; coexistence; natural occurrence.

4.1. INTRODUÇÃO

Trichogramma pretiosum Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) são importantes parasitoides no estudo de agentes de controle biológico potenciais para manejo de *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae). *T. pretiosum* é um parasitoide de grande distribuição geográfica e ocorrência natural (SILVA et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2019; FRAGOSO et al., 2020; PARRA; COELHO JR, 2022). Já *T. remus* é um parasitoide exótico, originário da Ásia (CAVE, 2000), introduzido no Brasil pela primeira vez em 1983, posteriormente em 1996 e no ano de 2011, no entanto nos últimos anos foi relatado a ocorrência natural de *T. remus* em massa de ovos de *S. frugiperda* (WENGRAT et al., 2021).

Atualmente, programas de controle biológico com uso de *Trichogramma* spp. é uma realidade para muitos cultivos (PARRA; COELHO JR, 2022). Principalmente quando se trata de *T. pretiosum*, que é um parasitoide generalista, o que faz dessa espécie um agente de controle versátil e de uso efetivo no controle de diversos lepidópteros-praga, inclusive no controle de *S. frugiperda* (OLIVEIRA et al., 2019; PINTO; FERNANDES, 2020). No entanto, no controle de *S. frugiperda* o parasitismo se concentra nas extremidades das massas de ovos, pois as barreiras morfológicas, camadas sobrepostas e escamas depositadas pelas mariposas de *S. frugiperda*, impedem o parasitoide de adentrar a massa de ovo (DONG et al., 2021). Portanto, a estratégia a ser adotada para o uso de *T. pretiosum* no controle de *S. frugiperda* seria como tática complementar a outra espécie de parasitoide ou associada a outra tática de manejo.

Telenomus remus é uma espécie de parasitoide potencial a ser usada em combinação com *T. pretiosum* no manejo de *S. frugiperda*. É um parasitoide com alta especificidade a lagartas da família Noctuidae, alta capacidade de parasitismo em ovos de *S. frugiperda* com e sem escama (CARNEIRO; FERNANDES, 2012; PINTO; FERNANDES, 2020; DONG et al., 2021). Em alguns países são relatados casos de liberação em campo, no entanto no Brasil, ainda não é uma realidade. A criação massal de *T. remus* é feita apenas em pequena escala, para fins de pesquisa, devido a produção massal em ovos de *S. frugiperda* ser inviável e o uso de hospedeiro alternativo ainda não validado (SILVA et al., 2022).

A integração de *T. pretiosum* e *T. remus* torna o controle de *S. frugiperda* assertivo. Quando *T. pretiosum* e *T. remus* são utilizados em combinação simultânea, há uma adição de parasitismo comparado ao uso de uma única espécie, podendo chegar a atingir 97,5% de parasitismo (FIGUEIREDO; DELLA LÚCIA; CRUZ, 2002; FIGUEIREDO et al., 2015). Outro ponto positivo seria que com a associação das duas espécies de parasitoides, a quantidade de *T. remus* a ser utilizada seria significativamente menor ao que é usado em liberação de uma única espécie, possibilitando assim a criação de *T. remus* em ovos de *S. frugiperda*. No entanto, existem poucos estudos sobre a quantidade de parasitoide de cada espécie para ser usado em liberações conjuntas. Sabendo disso, o objetivo desse estudo foi realizar a liberação combinada de *Trichogramma pretiosum* e *Telenomus remus* em condições de laboratório e semi-campo afim de determinar a melhor forma de associação dessas duas espécies no controle de *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae).

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. ÁREA EXPERIMENTAL

Os experimentos e as criações de insetos foram conduzidos nos laboratórios do Grupo de Manejo Integrado de Pragas – AGRIMIP, pertencente à Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho/ Faculdade de Ciências Agronômicas – UNESP/FCA, campus de Botucatu/SP.

4.2.2. SISTEMA DE CRIAÇÃO DOS INSETOS

Para realização dos experimentos foi utilizada a linhagem de *T. remus* LAB, multiplicada em ovos de *S. frugiperda*. A criação de *S. frugiperda* era feita em dieta artificial (Greene et al., 1976) até o estágio de pupa. Posteriormente, as pupas eram transferidas para gaiolas feitas de cilindros de policloreto de vinila - PVC (10×21,5 cm). Após a emergência, os adultos eram mantidos em gaiolas semelhantes, no entanto, revestidas com papel kraft e alimentados com mel a 10%, conforme a metodologia de Bueno et al., (2010). Ovos de *S. frugiperda* (<48h) eram coletados e

ofertados para os parasitoides seguindo os procedimentos de criação e manutenção de *T. remus* descritos por Silva et al., (2022).

A linhagem de *T. pretiosum* utilizada nesse estudo foi coletada em campo, na área de plantio de milho da Fazenda Experimental Lageado, pertencente a UNESP/FCA, Botucatu/SP. Para a criação de *T. pretiosum* era utilizado como hospedeiro, *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), multiplicado conforme a metodologia de Parra et al., (2014). Para multiplicação de *T. pretiosum*, ovos de *A. kuehniella* eram colados, com cola branca atóxica, em cartelas de papel sulfite (15×11cm) e inviabilizados por luz UV em câmara de fluxo vertical, por 45 minutos. Posteriormente, as cartelas eram ofertadas aos parasitoides recém emergidos, em potes plásticos transparentes (2.5 L). Para alimentação dos parasitoides era ofertado filetes de mel na lateral interna de cada pote. Depois de 48h de parasitismo, as cartelas eram retiradas e adicionadas a outro pote de plástico, no qual permaneciam até a emergência da próxima geração de parasitoides. Todas as espécies eram mantidas em salas climatizadas (25±1°C; UR 70±10% e fotofase 12h).

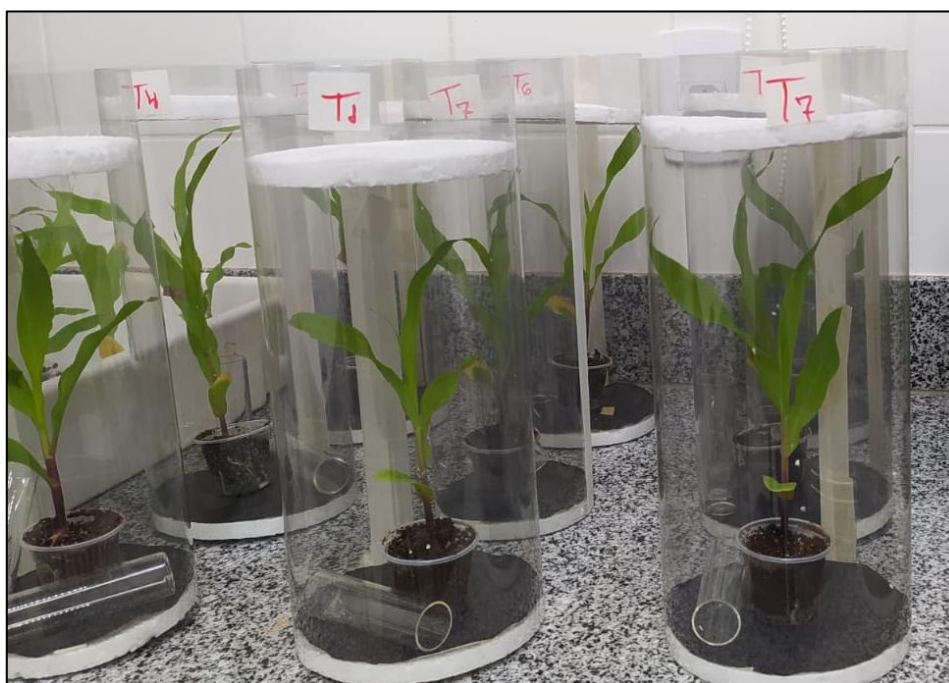
4.2.3. LIBERAÇÃO COMBINADA DE *Trichogramma pretiosum* E *Telenomus remus*, EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO

Para liberação combinada de *T. remus* e *T. pretiosum* foi utilizado um número variável de parasitoides de cada espécie em relação a um número fixo de ovos de *S. frugiperda*. As proporções dos parasitoides liberados foi determinada baseando-se na capacidade de parasitismo de cada espécie. Foram determinadas sete combinações: T1 – 10 *T. pretiosum*; T2 – 8 *T. pretiosum* + 2 *T. remus*; T3 – 6 *T. pretiosum* + 4 *T. remus*; T4 – 4 *T. pretiosum* + 8 *T. remus*; T5 – 2 *T. pretiosum* + 8 *T. remus*; T6 – 10 *T. pretiosum* + 10 *T. remus*; T7 – 10 *T. remus*. Cada tratamento contendo quatro repetições.

As fêmeas de cada espécie de parasitoide foram individualizadas na proporção das doses acima, todas as fêmeas recém emergidas (até 36h de idade), previamente alimentadas e copuladas. Foram separadas também massas de ovos de *S. frugiperda* frescas (<24h), cada massa de ovo contendo cerca de 40-50 ovos e com até duas camadas de ovos sobrepostos.

Para a execução do experimento foram confeccionadas gaiolas utilizando placas de acetato (30 cm altura × 12cm Ø) fechadas na parte superior e inferior com isopor. Dentro de cada gaiola foi colocado uma planta de milho cultivar em estágio V2 –V3 (2 a 3 folhas totalmente expandidas), plantada em um copo plástico descartável (50mL). Na primeira folha cotiledonar de cada planta de milho foi colocada uma massa de ovo de *S. frugiperda*, fixada com auxílio de um grampeador (Figura 1).

Figura 1 - Gaiolas para liberação combinada de *T. remus* e *T. pretiosum* em plantas de milho, em condições de laboratório



Os tubos de vidro (8.5×2.5cm) contendo os parasitoides, nas doses preestabelecidas acima, foram inseridos nas gaiolas de acetato e posteriormente a gaiola foi fechada com uma placa de isopor. Depois de 24h de parasitismo, as massas de ovos de *S. frugiperda* foram retiradas das plantas de milho e adicionadas em tubo de vidro, fechados com filme PVC transparente e acondicionadas em câmaras climáticas reguladas a temperatura de 25°C. Diariamente eram verificadas para remoção de lagartas de *S. frugiperda* para não haver danos aos ovos parasitados.

Após a emergência dos parasitoides, cada cartela era avaliada quanto a porcentagem de ovos parasitados, porcentagem de emergência, quantidade e espécie dos parasitoides emergidos.

4.2.4. LIBERAÇÃO COMBINADA DE *Trichogramma pretiosum* E *Telenomus remus*, EM CONDIÇÕES DE SEMI-CAMPO

Na liberação de parasitoides em condições de semi-campo, foram utilizadas as mesmas doses do experimento em condição de laboratório. No entanto, cada tratamento tinha cinco repetições e as plantas de milho cultivar utilizadas estavam em estágio de desenvolvimento V4-V5 (4 a 5 folhas totalmente expandidas). As plantas de milho foram individualizadas em gaiolas (1×0.4m) confeccionadas com tecido voal e arame galvanizado (2.65 mm) (Figura 2) e na primeira folha cotiledonar, mais próxima ao cartucho era fixada uma massa de ovo de *S. frugiperda* contendo cerca de 80-90 ovos.

Figura 2 - Gaiolas experimentais para liberação combinada de *Telenomus remus* e *Trichogramma pretiosum* em plantas de milho, em condições de semi-campo



Os parasitoides, nas doses preestabelecidas, foram colocados no interior de cada gaiola pela parte inferior e posteriormente a gaiola era fechada com barbante para evitar a saída dos parasitoides. O parasitismo foi permitido por 24h e

posteriormente as posturas foram recolhidas, identificadas e colocadas em tubos de vidro fechados com plástico PVC transparente e acondicionadas em câmaras climáticas reguladas à 25°C. Diariamente, as massas de ovos foram observadas para eliminação das lagartas de *S. frugiperda* que porventura eclodissem de ovos não parasitados.

4.2.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

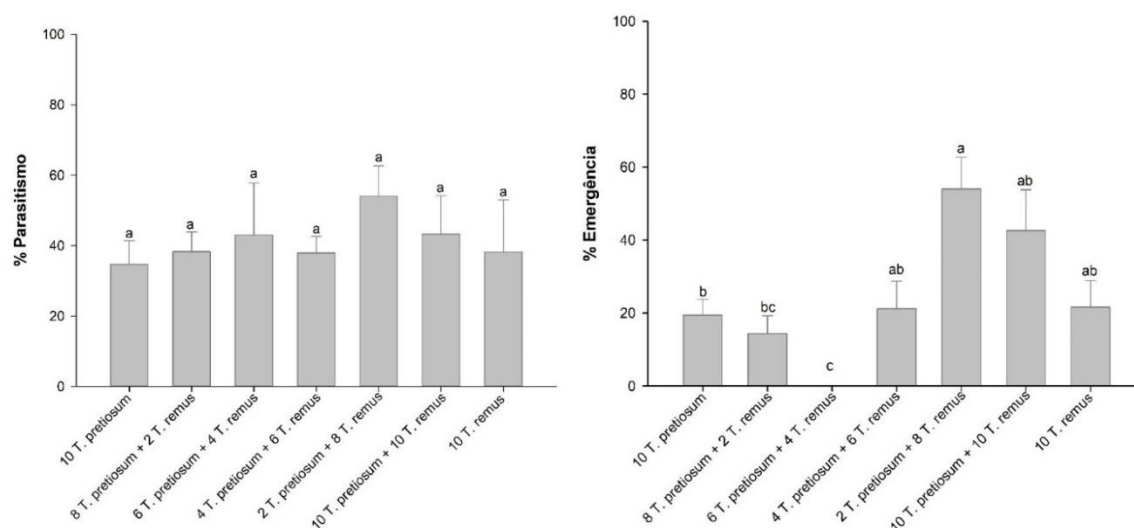
O experimento foi conduzido em delineamento de blocos inteiramente casualizado (DBC) com sete tratamentos e cinco repetições. Os parâmetros avaliados foram: parasitismo, emergência e média de parasitoides/espécie emergidos por tratamento. Os dados foram transformados em $\sqrt{(X+1)}$, submetidos a análise de variância para testar efeito dos tratamentos e as médias significativas comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). Todas as análises foram feitas no software AgroEstat.

4.3. RESULTADOS

4.3.1. LIBERAÇÃO COMBINADA DE *Trichogramma pretiosum* E *Telenomus remus*, EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO

Em laboratório, não houve diferença estatística no parasitismo entre os tratamentos ($F=0.38$; $df= 6.21$; $p < 0,881$). O parasitismo máximo foi 54% (Figura 3). A porcentagem de emergência foi menor comparado a quantidade de ovos parasitados (Figura 3).

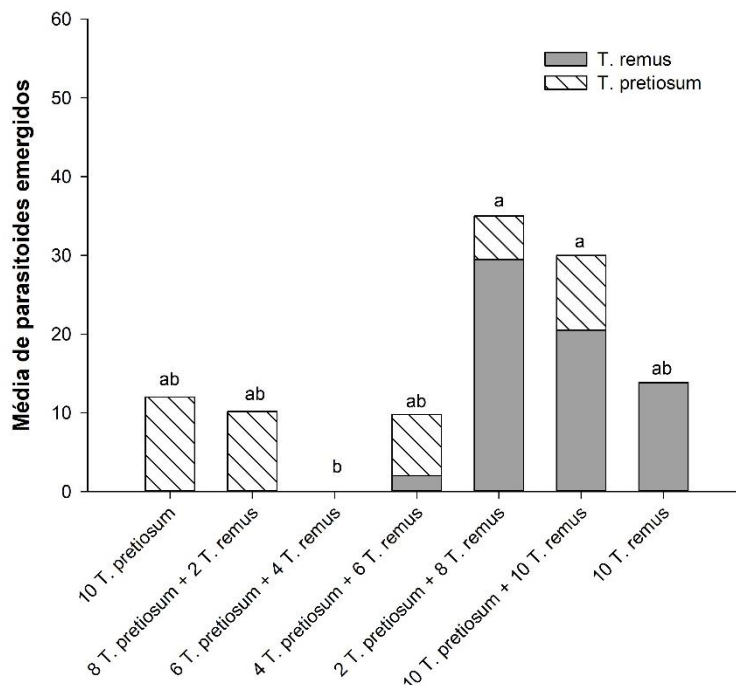
Figura 3 - Parasitismo e emergência (média $\pm$ erro padrão) de *T. pretiosum* e *T. remus* em ovos de *S. frugiperda* liberados de forma conjunta, em condições de laboratório ($25\pm 1^\circ\text{C}$, UV $70\pm 10\%$ e fotofase 12:12).



Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0.05$).

A maior porcentagem de emergência ocorreu nas combinações que havia uma menor proporção de *T. pretiosum* em relação a uma maior quantidade de *T. remus*. Os resultados mostram que a combinação de 2 *T. pretiosum* + 8 *T. remus* teve maior taxa de emergência comparado a *T. pretiosum* parasitando sozinho e a combinação de 8 *T. pretiosum* + 2 *T. remus*. A combinação de 6 *T. pretiosum* + 4 *T. remus* não houve emergência ($F = 6.44$; $df = 6.21$; $p < 0.006$).

Figura 4 - Número de parasitoides de *T. pretiosum* e *T. remus* emergidos de ovos de *S. frugiperda* em condições de laboratório ($25\pm 1^\circ\text{C}$, UV $70\pm 10\%$ e fotofase 12:12).



Médias seguidas por letras iguais não possuem diferença estatística pelo teste de Tukey ($P < 0.05$)

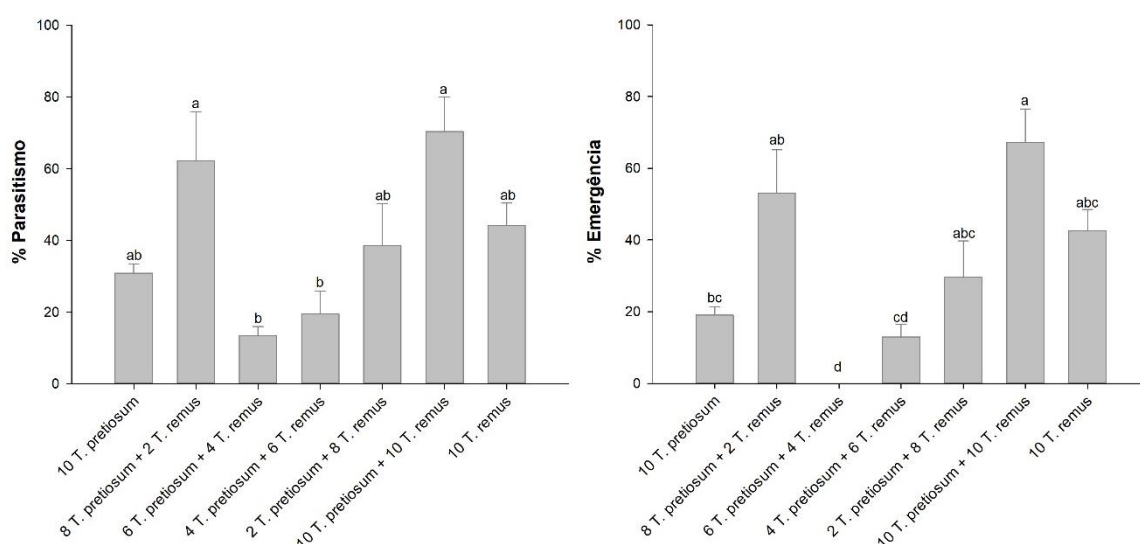
Três das combinações testadas tiveram emergência das duas espécies de parasitoides. Sendo que em duas combinações (2 *T. pretiosum* + 8 *T. pretiosum* e 10 *T. pretiosum* + 10 *T. remus*) foi obtido um maior número de *T. remus* emergidos comparado a quantidade de *T. pretiosum*. O tratamento de 10 *T. pretiosum* se assemelhou a quantidade de parasitoides de *T. remus* emergidos quando o tratamento era constituído de somente *T. remus*. Como já esperado, por não haver ovos com orifício de saída de parasitoides, a combinação de 6 *T. pretiosum* + 4 *T. remus* não teve parasitoides emergidos. De forma geral, a média de parasitoides emergidos nos tratamentos não tiveram diferença estatisticamente significativas ($F = 7.22$; $df = 6, 21$; $p < 0.0003$).

4.3.2. LIBERAÇÃO COMBINADA DE *Trichogramma pretiosum* E *Telenomus remus*, EM CONDIÇÕES DE SEMI-CAMPO

Em condições de semi-campo, o parasitismo de *T. pretiosum* e *T. remus* em ovos de *S. frugiperda* teve aumento significativo, comparado a condições de

laboratório ($F= 5.89$; $df= 6. 4.24$; $p< 0,0007$). No entanto, o parasitismo mante-se abaixo de 80%, no qual o maior média de parasitismo foi alcançada quando liberado a quantidade de 10 *T. pretiosum* + 10 *T. remus* e na combinação de 8 *T. pretiosum* + 2 *T. remus*, alcançando 70.4 e 62.2% de parasitismo respectivamente. Diferindo da combinação de 6 *T. pretiosum* + 4 *T. remus* ou até mesmo quando a combinação representava um número maior de *T. remus* em relação a *T. pretiosum* (4 *T. pretiosum* + 6 *T. remus*). Comparado as demais, as combinações são estatisticamente iguais (Figura 5).

Figura 5 - Parasitismo e emergência (média $\pm$ erro padrão) de *T. pretiosum* e *T. remus* em ovos de *S. frugiperda* liberados de forma conjunta, em condições de semi-campo.

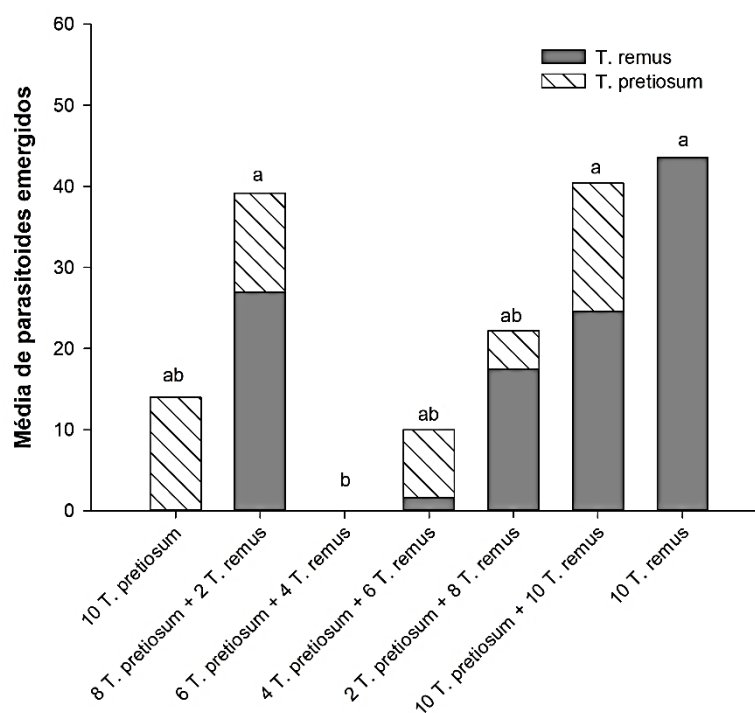


Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0.05$).

A porcentagem de emergência foi significativamente menor comparado ao parasitismo ($F=10.84$; $df= 6.4.24$; $p < 0,0001$). Similar ao ocorrido em laboratório (Figura 3) a combinação de 6 *T. pretiosum* + 4 *T. remus* não houve emergência de parasitoides (Figura 5). A maior emergência ocorreu na liberação conjunta de 10 *T. pretiosum* + 10 *T. remus* comparado a *T. pretiosum* liberado sozinho e liberado na combinação de 4 *T. pretiosum* + 6 *T. pretiosum*. Quando comparado a liberação de 8 *T. pretiosum* + 2 *T. remus*, e 2 *T. pretiosum* + 8 *T. remus* e a liberação de somente *T. remus*, a emergência foi estatisticamente igual (Figura 5).

Grande parte dos tratamentos, exceto quando a liberação foi feita de apenas uma espécie de parasitoide, houve a emergência de ambas as espécies de parasitoide (Figura 6).

Figura 6 - Número de parasitoides de *T. pretiosum* e *T. remus* emergidos de ovos de *S. frugiperda* em condições de semi-campo.



Médias seguidas por letras iguais não possuem diferença estatística pelo teste de Tukey ($P < 0.05$)

Nota-se que a emergência de *T. remus* foi maior comparado a quantidade de *T. pretiosum* emergidos. A maior emergência de parasitoides ocorreu quando feito a liberação de apenas *T. remus*. No entanto, foi significativamente igual ao número médio de parasitoides emergidos na liberação de 10 *T. pretiosum* + 10 *T. remus*, 8 *T. pretiosum* + 2 *T. remus* que também se assemelhou, estatisticamente, a liberação de *T. pretiosum* sozinho e as combinações de 4 *T. pretiosum* + 6 *T. remus* e 2 *T. pretiosum* + 8 *T. remus* ($F = 6.76$; $df = 6, 4, 24$; $p < 0.0003$).

4.4. DISCUSSÃO

Em condições de laboratório, as combinações de parasitoides utilizadas não apresentaram diferença de parasitismo. No entanto, observou-se que a emergência de parasitoides foi maior quando *T. pretiosum* e *T. remus* estavam em associação. As melhores combinações foram aquelas que tinham maior quantidade de *T. remus* em relação a *T. pretiosum* ou as duas espécies em quantidades iguais. Entretanto, o parasitismo e emergência máxima ficou em torno de 50% de ovos parasitados/emergidos. Goulart et al., (2011) alcançou resultados diferentes na liberação combinada de *T. pretiosum* e *T. remus*, em condições de laboratório, no qual o parasitismo relatado foi significativamente maior, em torno de 80%, com adição de apenas uma fêmea de *T. remus* para nove fêmeas de *T. pretiosum*.

Em condições de semi-campo, no qual não foi controlado os fatores de temperatura, umidade e fotoperíodo, a quantidade de ovos parasitados e que tiveram emergência de parasitoides foi maior do que os resultados do experimento de laboratório, atingindo entre 60-70% de parasitismo em tratamentos com associação de 8 fêmeas de *T. pretiosum* mais duas fêmeas de *T. remus* e no tratamento com 10 *T. pretiosum* mais 10 *T. remus*. Levando em consideração que quando duas espécies se beneficiam do mesmo recurso pode haver competição interespecífica (CARNEIRO; FERNANDES, 2012), a competição em laboratório pode ter sido maior, e deve ter afetado o parasitismo de ambas as espécies. As gaiolas e plantas de milho usadas em laboratório eram menores do que as usadas em condições de semi-campo, portanto a área para forrageamento era menor, podendo causar mais interação direta entre as espécies de parasitoides.

Em ambas as condições, laboratório e semi-campo, teve emergência de *T. remus* e *T. pretiosum* nos tratamentos em associação. Demonstrando que essas duas espécies são coexistentes e conseguem parasitar a mesma massa de ovos de *S. frugiperda*. Analisando a proporção de parasitoides, a quantidade de *T. remus* emergida é superior a quantidade de *T. pretiosum* por tratamento. Trabalhos que comparam os parâmetros biológicos de *T. remus* com *T. pretiosum* mostram que o parasitismo de *T. remus* é significativamente mais alto comparado ao parasitismo de *T. pretiosum* (PINTO; FERNANDES, 2020; DONG et al., 2021). Carneiro; Fernandes (2012) comparando a associação de fêmeas de *T. pretiosum* e *T. remus* parasitando

a mesma massa de ovos de *S. frugiperda*, relata que há predominância do parasitismo por fêmeas de *T. remus*.

Já era esperado que o parasitismo de *T. pretiosum* fosse menor. Ovos de *S. frugiperda* possui camadas sobrepostas, e as fêmeas de *T. pretiosum* tem dificuldade de ultrapassar essas camadas, e já *T. remus* é um parasitoide mais rústico e consegue parasitar ovos sobrepostos (CARNEIRO; FERNANDES, 2012; DONG et al., 2021). A busca ativa ao hospedeiro também deve ser considerada, no qual *T. remus* também tem vantagem pois leva menos tempo para encontrar os ovos do hospedeiro e tem o tempo entre o primeiro e segundo parasitismo inferior ao tempo necessário para o parasitismo de *T. pretiosum*.

O número de ovos em cada massa de ovo de *S. frugiperda* utilizados para o parasitismo nesse estudo foi menor (40 ovos em laboratório e cerca de 80 ovos em condições de semi-campo) do que a média de ovos utilizadas em outros trabalhos. Outros estudos relatam a utilização de uma quantidade maior de ovos de *S. frugiperda* (aproximadamente 100 ovos) para a mesma proporção de parasitoides e o parasitismo alcançado foi maior (GOULART et al., 2011). Tendo em vista que *T. remus* tem uma efetividade de parasitismo superior ao parasitismo de *T. pretiosum* (GOULART et al., 2022; DONG et al., 2021) nossos resultados demonstram que para as populações aqui testadas, essa diferença não foi expressiva. Uma hipótese que pode justificar esses resultados é que a população de *T. remus* utilizada tem variabilidade genética desconhecida. Essa espécie é criada em laboratório por um longo período, sem rejuvenescimento da população. A criação de parasitoides por sucessivas gerações em laboratório pode ter efeito direto na qualidade, capacidade de parasitismo e perda de variabilidade genética (ZBORALSKI et al., 2015; GHAEMMAGHAMI et al., 2021).

Em conclusão, esse trabalho demonstra que houve adição de parasitismo em ovos de *S. frugiperda* quando *T. remus* e *T. pretiosum* parasitaram simultaneamente. No entanto, o parasitismo não foi altamente significativo. De acordo com os resultados encontrados, mesmo em liberações combinadas de *T. remus* e *T. pretiosum* seria necessário usar outras táticas de manejo para maximizar o controle de *S. frugiperda*. Portanto, mais estudos são necessários para analisar a liberação combinada desses agentes de controle biológico em condições de campo.

REFERÊNCIAS

- BUENO, R. C. O. F. et al. Parasitism Capacity of *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) on *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) Eggs. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.53, n. 1, p. 133-139, jan./fev. 2010.
- CAVE, R. D. Biology, ecology and use in pest management of *Telenomus remus*. **Biocontrol News and Information**, v. 21, p. 21–26, 2000.
- CARNEIRO, T. R.; FERNANDES, O. A.; Interspecific interaction between *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) and *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs. **Anais Da Academia Brasileira de Ciências**, v. 84, n. 4, p.1127–1135, dez. 2012.
- DONG, H. et al., Morphological defense of the egg mass of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) affects parasitic capacity and alters behaviors of egg parasitoid wasps. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 24, n.3, 671-678. 2021.
- FIGUEIREDO, M. de L. C.; DELLA LÚCIA, T. M. C.; CRUZ, I. Effect of *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) density on control of *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) egg masses upon release in a maize field. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.1, n. 2, p.12-19, 2002.
- FRAGOSO, D. F. M. et al., *Trichogramma* Westwood, 1833 (Hymenoptera, Trichogrammatidae) collected in orchards in Rio Grande do Sul State, Brazil. **Acta Biológica Catarinense**, v. 7, n. 4, p. 50-57, 2020.
- GOULART et al., Interaction between *Telenomus remus* and *Trichogramma pretiosum* in the management of *Spodoptera* spp. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 55, n. 1, p. 121-124, mar. 2011.
- GREENE, G. L.; LEPLA, N. C.; DICKERSON, W. A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology**, v. 69, 487–488, 1976.
- GHAEMMAGHAMI, E. et al., Continuous rearing on *Ephesia kuehniella* reshaped quality of the parasitoid wasp *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, 24(2), 166-174, 2021.
- OLIVEIRA, R. C. M et al., Natural parasitism of *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in *Neoleucinodes elegantalis* (Lepidoptera: Crambidae) eggs on tomato (Solanales: Solanaceae) in the Northeast region, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 80, p. 474-475. 2019.
- PARRA, J. R. P. et al., Criação de *Anagasta kuehniella*, em pequena escala, para produção de *Trichogramma*, Piracicaba, SP, Ed. Occasio, 1ed., 2014.

PARRA, J. R. P., COELHO JR, A. Insect rearing techniques for biological control programs, a component of sustainable agriculture in Brazil. **Insects**, v. 13, n.1, p.105, 2022.

PINTO, J. R. L., FERNANDES, O. A. Parasitism capacity of *Telenomus remus* and *Trichogramma pretiosum* on eggs of moth pests of peanut. **Bulletin of Insectology**, v. 73, p. 71-78. 2020.

SILVA, C. B. et al., Influence of factitious hosts on the morphometry and diversity of endosymbionts of the egg parasitoid *Telenomus remus*: insights for applied biological control. **Phytoparasitica**, p. 1-12. 2022.

SILVA, C. S. B. et al. Evidence of exploitative competition among egg parasitoids of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in maize. **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 41, n. 2, p. 184-186, 2015.

WENGRAT, A.P.G.S. et al., Integrative taxonomy and phylogeography of *Telenomus remus* (Scelionidae), with the first record of natural parasitism of *Spodoptera* spp. in Brazil. **Scientific Report**, v.11, p. 14110, 2021.

ZBORALSKI, A. et al. Density-dependent dispersal in biological control agents: a reflexion on the side-effects of mass-rearing conditions. **BioControl**, v. 61, n.1, p. 13–22, set. 2015.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Trichogramma pretiosum teve maior ocorrência natural em campo comparado a *T. remus*. Além disso, pode ser facilmente multiplicado em hospedeiros alternativos em condições de laboratório. As traças *A. kuehniella* e *C. cephalonica* foram os hospedeiros mais viáveis para a produção de uma grande quantidade de parasitoides em comparação com *S. frugiperda*. A traça-do-arroz, *C. cephalonica*, hospedeiro comum a *T. pretiosum* e *T. remus*, quando alimentada com diferentes ingredientes não apresentou ganhos significativos na fecundidade, no desenvolvimento e qualidade de *T. pretiosum* comparada a dieta padrão de *C. cephalonica*.

Os parasitoides de ovos *T. pretiosum* e *T. remus* são espécies promissoras para o controle biológico de *S. frugiperda* se usados de forma associada, em proporções iguais ou uma quantidade maior de *T. remus* em relação a uma quantidade menor de *T. pretiosum*. No entanto, é necessário estudar a real viabilidade e ganhos com a integração dessas duas espécies tendo em vista que é necessário empregar outra(s) tática(s) de manejo adicional(is).

REFERÊNCIAS

- BHANDARI, G.; REGMI, R.; SHRESTHA, J.; Effect of different diets on biology of *Corcyra cephalonica* (Stainton) under laboratory condition in Chitwan, Nepal. **International Journal of Applied Sciences and Biotechnology**, v. 2, n. 4, p. 585-588, 2014.
- BERNARDI, E. B.; HADDAD, M. de L.; PARRA, J. R. P.; Comparison of artificial diets for rearing *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865)(Lep., Pyralidae) for *Trichogramma* mass production. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 60, n. 1, p. 45-52, 2000.
- BESERRA, E. B.; PARRA, J. R. P. Biologia e parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em ovos de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera, Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 48, p. 119-126, 2004.
- CARNEIRO, T. R.; FERNANDES, O. A.; Interspecific interaction between *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) and *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs. **Anais Da Academia Brasileira de Ciências**, v. 84, n. 4, p.1127–1135, dez. 2012.
- DAY, R. et al.; Fall Armyworm: Impacts and Implications for Africa. **Outlooks on Pest Management**, v. 28, n.5, p. 196–201, out. 2017.
- DONG, H. et al., Morphological defense of the egg mass of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) affects parasitic capacity and alters behaviors of egg parasitoid wasps. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 24, n.3, 671-678. 2021.
- FIGUEIREDO, M. L. C. et al. Biological control with *Trichogramma pretiosum* increases organic maize productivity by 19.4%. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 35, n. 3, p. 1175-1183, jun. 2015.
- HASSAN, S. A. Seleção de espécies de *Trichogramma* para o uso em programas de controle biológico. In: Parra J. R. P. & Zucchi, R. A. (eds.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: FEALQ; 1997. p.183-206.
- ISAAA, Serviço Internacional para Aquisição de Aplicações de Agrobiotecnologia. Situação global dos cultivos transgênicos em 2017. **Resumo executivo: ISAAA**, 2018.
- KENIS, M. et al., Invasiveness, biology, ecology, and management of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. **Entomologia Generalis**, 2022.
- KUMELA, T. et al. Farmers' knowledge, perceptions, and management practices of the new invasive pest, fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in Ethiopia and Kenya. **International journal of pest management**, v. 65, n.1, p. 1-9, 2018.
- KUMAR et al.; Effect of different diets on the biology of rice moth, *Corcyra cephalonica* (Stainton). **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v.6, n.3, p. 251-254, 2018.

PARRA, J. R. P., COELHO JR, A. Insect rearing techniques for biological control programs, a component of sustainable agriculture in Brazil. **Insects**, v. 13, n.1, p.105, 2022.

POMARI, A. F. et al, Biological Characteristics and Thermal Requirements of the Biological Control Agent *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) Reared on Eggs of Different Species of the Genus *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Entomological Society of America**. v.105, n.1, p.73-81, 2012.

POMARI, A. F. et al. Releasing number of *Telenomus remus* (Nixon) (Hymenoptera: Platygasteridae) against *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) in corn, cotton and soybean. Hymenoptera: Platygasteridae) against *Spodoptera frugiperda*. **Ciência Rural**, v.43, n.3, p.377-382, mar. 2013.

POMARI, A. F. et al. Biological parameters and parasitism capacity of *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) reared on natural and factitious hosts for successive generations. **African Journal of Agricultural**. v. 10, n. 33, p. 3225-3233, 2015.

QUEIROZ, A. P. Quality control of *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) reared on the factitious host *Corcyra cephalonica* (Lepidoptera: Pyralidae) for successive generations. **Bulletin of Entomological Research**, v. 107, n. 6, p. 1-8. 2017.

SILVA, C. B. et al., Influence of factitious hosts on the morphometry and diversity of endosymbionts of the egg parasitoid *Telenomus remus*: insights for applied biological control. **Phytoparasitica**, p. 1-12. 2022.

SILVA, C. S. B. et al. Evidence of exploitative competition among egg parasitoids of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in maize. **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 41, n. 2, p. 184-186, 2015.

VAN DEN BERG, J.; BREWER, M. J.; REISIG, D. D. A Special Collection: *Spodoptera frugiperda* (Fall Armyworm): Ecology and Management of its World-Scale Invasion Outside of the Americas. **Journal of Economic Entomology**, v. 115, n. 6, p. 1725-1728, 2022.

WAAGE, J. K.; HASSELL, M. P. Parasitoids as biological control agents—a fundamental approach. **Parasitology**, v. 84, n. 4, p. 241-268, 1982.