

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS**

**INTERAÇÕES BIOLÓGICAS ENTRE *Tetrastichus howardi*  
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) E *Cotesia flavipes*  
(HYMENOPTERA: BRACONIDAE) NO PARASITISMO  
DE *Diatraea saccharalis* (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)  
EM CANA-DE-AÇÚCAR**

**DANIELE PERASSA COSTA**

**DOURADOS  
MATO GROSSO DO SUL  
2013**

**INTERAÇÕES BIOLÓGICAS ENTRE *Tetrastichus howardi*  
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) E *Cotesia flavipes*  
(HYMENOPTERA: BRACONIDAE) NO PARASITISMO DE  
*Diatraea saccharalis* (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) EM CANA-  
DE-AÇÚCAR**

DANIELE PERASSA COSTA  
Bióloga

Orientador: PROF. DR. FABRICIO FAGUNDES PEREIRA

Co-orientador: PROF. DR. PATRIK LUIZ PASTORI

Tese apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal, para obtenção do título de Doutora.

Dourados  
Mato Grosso do Sul  
2013

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Biblioteca Central da UFGD, Dourados, MS, Brasil.**

S586i Costa, Daniele Perassa.  
Interações biológicas entre *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) e *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) no parasitismo de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar / Daniele Perassa Costa. – Dourados, MS : UFGD, 2013.  
82f.

Orientador: Fabricio Fagundes Pereira  
Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal da Grande Dourados.

1. Parasitoides. 2. *Cotesia flavipes*. 3. *Tetrastichus howardi*. 4. *Diatraea saccharalis*. 5. Controle da broca-da-cana. I. Título. II. Pereira, Fabricio Fagundes.

CDD: 616.96

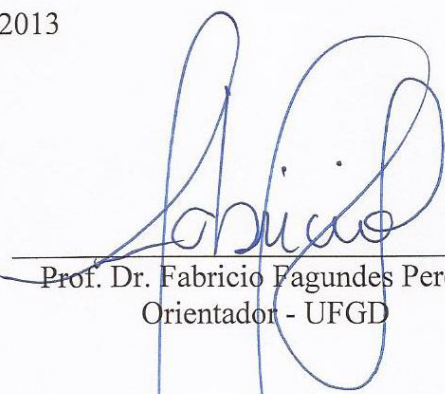
**INTERAÇÕES BIOLÓGICAS ENTRE *Tetrastichus howardi* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) E *Cotesia flavipes* (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) NO PARASITISMO DE *Diatraea saccharalis* (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) EM CANA-DE-AÇÚCAR**

Por

Daniele Perassa Costa

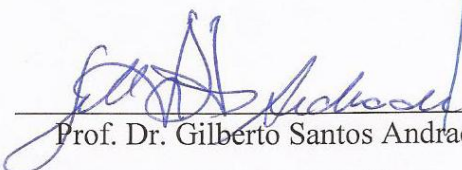
Tese apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de DOUTORA EM AGRONOMIA

Aprovada em: 20 / 08 /2013



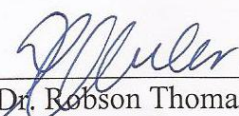
---

Prof. Dr. Fabricio Fagundes Pereira  
Orientador - UFGD



---

Prof. Dr. Gilberto Santos Andrade  
Membro Titular - UNIR



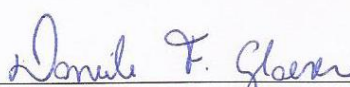
---

Prof. Dr. Robson Thomaz Thuler  
Membro Titular - IFTM



---

Dr. Harley Nonato de Oliveira  
Membro Titular - Embrapa/CPAO



---

Dra. Daniele Fabiana Glaeser  
Membro Titular - Embrapa/CPAO

*Dedico*

*Aos meus amados pais, Maria de Lourdes Perassa Costa e Vanderlei Costa,  
Por serem exemplo de vida e me  
ensinarem a ir em busca dos meus ideais,  
com paciência e determinação.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus por me conceder tudo que necessito, dar forças para lidar com as adversidades e colocar em meu caminho pessoas iluminadas;

A Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), pela oportunidade em realizar o Doutorado em Produção Vegetal;

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico Tecnológico (CNPq) pelos recursos cedidos a execução deste trabalho;

A Fundação de Apoio e Desenvolvimento ao Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado do Mato Grosso do Sul (FUNDECT) pelos recursos cedidos a execução deste trabalho;

Ao professor Dr. Fabricio Fagundes Pereira pela oportunidade de orientação no doutorado, paciência, disponibilidade, dedicação, ensinamentos e direcionamento nos trabalhos realizados, além da sua contagiante afinidade pelo controle biológico;

Ao professor Dr. Honório Roberto dos Santos pela oportunidade de orientação no mestrado, ensinamentos e exemplo de humildade e dedicação profissional a ser seguido;

Ao Co-orientador Dr. Patrik Luiz Pastori, pela generosidade e sugestões para melhoria desse trabalho;

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia-Produção Vegetal da UFGD, pela contribuição na minha formação profissional;

Aos membros das bancas de qualificação e defesa que prestaram seu apoio e valiosas sugestões na melhoria desse trabalho;

Aos amigos Camila Rossoni e Samir Kassab, a quem tenho imensa gratidão, admiração e por todo companheirismo e ajuda durante o Doutorado;

A Usina Monte Verde Agro-Energética S/A, especialmente ao Coordenador de Processos Agrícolas Antonio Higino Frederico Pereira, por disponibilizar a área experimental;

Aos amigos Cristina Grijota e Wagner Rodrigues Magalhães, pela amizade, acolhimento, paciência, confiança e ajuda para a realização do Doutorado;

As amigas Carla Cristina Dutra e Kellen Favero pela amizade que conquistamos e por todos os momentos que compartilhamos durante esta etapa em nossas vidas;

Ao amigo Eber Prado, pela amizade, ensinamentos e disponibilidade para me ajudar;

A secretária Maria Lúcia Teles, pela disponibilidade e providencial ajuda nas questões burocráticas;

Aos colegas Rogério Hidalgo Barbosa, Elison Floriano Tiago, Maykon Berndt, Alessandra Freitas, Jessica Lucchetta, Cácia Leila Tigre Pereira Viana, Fabiana Garcia Oliveira, Bruna Cáceres, Ivan Vaz Sanches e Lucas Martins Lopes do Laboratório de Entomologia/Controle Biológico (LECOBIOL) da UFGD, pelo convívio e companheirismo;

A todos os colegas do Curso de Pós-Graduação, pela amizade, convívio e companheirismo na realização dos trabalhos no decorrer do curso;

Aos meus amigos Francielly Heloisa de Castro, Gracy Lima, Alessandra Paim Berti, Paulo Robson de Alencar, Manoel Joaquim, Cassia de Carvalho, Fabiana Lima e Rosineide Duarte por todos os momentos inesquecíveis e pela amizade incondicional;

Aos meus amados e queridos, mãe, Maria de Lourdes Perassa, pai, Vanderlei Costa e irmão, Fábio Perassa Costa que foram os principais responsáveis por esta conquista, me apoiando durante todo período;

Ao meu amado André Luiz Caldeira, pelo amor e dedicação diário, compreensão pela distância, incentivo e pelo auxílio no desenvolvimento dos experimentos;

A minha adorada avó Linda Cazaroli Perassa, sempre me incentivando e estando ao meu lado em todos os momentos;

Enfim, a todos, que direta ou indiretamente, colaboraram para o êxito desse trabalho, o meu eterno agradecimento e estima.

## SUMÁRIO

|                        |      |
|------------------------|------|
| RESUMO.....            | viii |
| ABSTRACT.....          | ix   |
| INTRODUÇÃO GERAL ..... | 1    |
| OBJETIVO .....         | 4    |
| REFERÊNCIAS .....      | 5    |

|                                                                                                                                                                                                                                                                           |  |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|----|
| CAPÍTULO I. Desenvolvimento de <i>Tetrastichus howardi</i> (Hymenoptera: Eulophidae) e <i>Cotesia flavipes</i> (Hymenoptera: Braconidae) em lagartas de <i>Diatraea saccharalis</i> (Lepidoptera: Crambidae) expostas a diferentes densidades e períodos de parasitismo . |  | 11 |
| Resumo .....                                                                                                                                                                                                                                                              |  | 12 |
| Abstract.....                                                                                                                                                                                                                                                             |  | 13 |
| Introdução .....                                                                                                                                                                                                                                                          |  | 14 |
| Material e Métodos.....                                                                                                                                                                                                                                                   |  | 15 |
| Resultados.....                                                                                                                                                                                                                                                           |  | 18 |
| Discussão .....                                                                                                                                                                                                                                                           |  | 19 |
| Conclusão .....                                                                                                                                                                                                                                                           |  | 23 |
| Referências.....                                                                                                                                                                                                                                                          |  | 23 |

|                                                                                                                                                                                                                         |  |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|----|
| CAPÍTULO II. Desenvolvimento de <i>Tetrastichus howardi</i> (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de <i>Diatraea saccharalis</i> (Lepidoptera: Crambidae) expostas a diferentes densidades e períodos de parasitismo ..... |  | 36 |
| Resumo .....                                                                                                                                                                                                            |  | 37 |
| Abstract.....                                                                                                                                                                                                           |  | 38 |
| Introdução .....                                                                                                                                                                                                        |  | 39 |
| Material e Métodos.....                                                                                                                                                                                                 |  | 40 |
| Resultados.....                                                                                                                                                                                                         |  | 42 |
| Discussão .....                                                                                                                                                                                                         |  | 42 |
| Conclusão .....                                                                                                                                                                                                         |  | 45 |
| Referências.....                                                                                                                                                                                                        |  | 46 |



|                                                                                                                                                                                                                                                           |        |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| CAPÍTULO III. Eficiência de <i>Tetrastichus howardi</i> (Hymenoptera: Eulophidae) e <i>Cotesia flavipes</i> (Hymenoptera: Braconidae) para localizar e parasitar lagartas de <i>Diatraea saccharalis</i> (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar ..... | 55     |
| Resumo .....                                                                                                                                                                                                                                              | 56     |
| Abstract.....                                                                                                                                                                                                                                             | 57     |
| Introdução .....                                                                                                                                                                                                                                          | 58     |
| Material e Métodos.....                                                                                                                                                                                                                                   | 59     |
| Resultados.....                                                                                                                                                                                                                                           | 62     |
| Discussão .....                                                                                                                                                                                                                                           | 63     |
| Conclusão .....                                                                                                                                                                                                                                           | 67     |
| Referências.....                                                                                                                                                                                                                                          | 68     |
| <br>CONCLUSÕES GERAIS.....                                                                                                                                                                                                                                | <br>77 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS.....                                                                                                                                                                                                                                 | 79     |
| ANEXO .....                                                                                                                                                                                                                                               | 80     |

## RESUMO

*Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) é um endoparasitoide larval eficiente no controle da broca-da-cana *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) e *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide larval e pupal com potencial para ser utilizado no controle de lepidópteros-praga. O objetivo geral foi comparar aspectos biológicos reprodutivos de *T. howardi* e *C. flavipes* multiplicados em lagartas e pupas de *D. saccharalis* e as habilidades para localizar e parasitar lagartas desse lepidóptero em colmos de cana-de-açúcar em laboratório e campo. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Entomologia/Controle Biológico (LECOBIOL) da Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, e na área experimental da Usina Monte Verde Agro-Energética S/A em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. No capítulo I, foi avaliado o desenvolvimento de *T. howardi* e *C. flavipes* em lagartas de *D. saccharalis* expostas a diferentes densidades e períodos de parasitismo. No capítulo II, verificou-se o desenvolvimento de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis* expostas a diferentes densidades e períodos de parasitismo. E no capítulo III, analisou-se a eficiência de *T. howardi* e *C. flavipes* para localizar e parasitar lagartas de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar. Concluiu-se de maneira geral, que os parasitoides *T. howardi* e *C. flavipes* parasitaram lagartas de terceiro ínstar *D. saccharalis* em todas as combinações de densidades de fêmeas (uma e três) e períodos de parasitismo (0,016; 0,5; 1; 12; 24; 48; 72 e 96 horas). A maior taxa de emergência da progênie de *T. howardi* foi proveniente do aumento do período de parasitismo. O número de descendentes de *C. flavipes* por lagarta de terceiro ínstar de *D. saccharalis* decresceu com o aumento do período de parasitismo e o inverso foi observado para o parasitoide *T. howardi*. Três fêmeas de *T. howardi* com 96 horas de parasitismo e três de *C. flavipes* com trinta minutos de parasitismo em lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis* foram as combinações mais apropriadas para multiplicação desses parasitoides por proporcionar o maior número de descendentes por fêmea parasitoide. O parasitoide *T. howardi* parasitou e se desenvolveu em pupas de *D. saccharalis* em todas as combinações de densidades de fêmeas (uma, três e sete) e períodos de parasitismo (24, 48 e 72 horas). A produção de descendentes de *T. howardi* foi proporcional ao aumento da densidade (uma, três e sete) de fêmeas parasitoides. O número de fêmea produzida por fêmea de *T. howardi* por pupa de *D. saccharalis* foi inversamente proporcional ao aumento da densidade de fêmeas. Sete fêmeas de *T. howardi* com 24 horas de parasitismo em pupas de *D. saccharalis* foi a combinação mais apropriada para multiplicação desse parasitoide por proporcionar o maior número de descendentes por fêmea parasitoide. Os parasitoides *C. flavipes* e *T. howardi* localizaram e parasitaram lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis* em internódios de cana-de-açúcar em condições de laboratório e campo. Atributos como a longevidade, razão sexual aliada à capacidade de parasitar duas fases do hospedeiro (lagartas e pupas) e a facilidade de multiplicação em grandes quantidades são peculiaridades do parasitoide *T. howardi*, que o capacita e justificam a possibilidade de ser associado com *C. flavipes* em programas de controle biológico de *D. saccharalis*.

**Palavras-chave:** Multiplicação de parasitoides, densidade de parasitoides, período de parasitismo, localização do hospedeiro, associação de parasitoides.

## ABSTRACT

*Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) is a larval endoparasitoid effective in control of sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) and *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) is a larval and pupal endoparasitoid with the potential to be used to control lepidopteran pests. The general objective was to compare the biological reproductive *T. howardi* and *C. flavipes* multiplied in larvae and pupae *D. saccharalis* and ability to locate and parasitize caterpillars of this insect in the internode of sugarcane in the laboratory and field. The experiments were conducted at the Laboratory of Entomology/Biological Control (LECOBIOL ), Faculty of Agricultural Sciences, Federal University of Grande Dourados, and in the experimental area of Monte Verde Factory Agro-Energética S/A in Dourados, Mato Grosso do Sul , Brazil. In Chapter I, we evaluated the development of *T. howardi* and *C. flavipes* in larvae of *D. saccharalis* exposed to different densities and periods of parasitism. In Chapter II, there was the development of *T. howardi* in pupae of *D. saccharalis* exposed to different densities and periods of parasitism. And in Chapter III, we analyzed the efficiency of *T. howardi* and *C. flavipes* to locate and parasitize larvae of *D. saccharalis* in sugarcane. Concluded generally that the parasitoids *T. howardi* and *C. flavipes* parasitized third instar *D. saccharalis* all combinations of densities of females (one and three) and periods of parasitism ( 0.016, 0.5, 1 , 12, 24 , 48, 72 and 96 hours). The highest rate of emergence of progeny of *T. howardi* was from the increase of the period of parasitism. The number of descendants of *C. flavipes* by third instar caterpillar of *D. saccharalis* decreased with the increase of the period of parasitism and the reverse was observed for the parasitoid *T. howardi*. Three females of *T. howardi* within 96 hours of parasitism and three *C. flavipes* with thirty minutes of parasitism in third instar larvae of *D. saccharalis* combinations are most appropriate for multiplication by these parasitoids provide the more number of descendent per female parasitoid. The parasitoid *T. howardi* parasitized and developed into pupae of *D. saccharalis* all combinations of densities of females (one, three and seven) and periods of parasitism (24, 48, and 72 hours). The production of descendent *T. howardi* was proportional to the density increase (one, three and seven) parasitoid females. The number of female produced by female *T. howardi* per pupa of *D. saccharalis* was inversely proportional to the density increase females. Seven females of *T. howardi* with 24 hours of parasitism in pupae of *D. saccharalis* was the combination most appropriate for multiplication of this parasitoid for providing the more number of descendent per female parasitoid. The parasitoid *C. flavipes* and *T. howardi* located and parasitized third instar *D. saccharalis* in internodes of sugarcane in the laboratory and fiel. Attributes such as longevity, sex ratio coupled with the ability to parasitize host two stages (larvae and pupae) and ease of multiplication in large quantities are peculiarities of parasitoid *T. howardi* that enable and justify the possibility of being associated with *C. flavipes* in biological control programs of *D. saccharalis*.

**Keywords:** Multiplication of parasitoids, parasitoid density, period of parasitism, host location, association of parasitoids.

## INTRODUÇÃO GERAL

O setor sucroalcooleiro evidencia posição de destaque no cenário socioeconômico brasileiro, em virtude de sua importância na geração de renda e empregos. A expansão de áreas cultivadas com cana-de-açúcar no Brasil se justifica pela demanda de seus produtos derivados, principalmente o etanol (UNICA, 2013). Estimativas indicam que a área cultivada com cana-de-açúcar destinada à atividade sucroalcooleira na safra 2013/2014 ultrapassará nove milhões de hectares (CONAB, 2013; CANASSAT, 2013). O Estado de Mato Grosso do Sul ocupa a quinta posição no ranking da produção de cana-de-açúcar na região Centro-Sul com 656,683 mil hectares cultivados e apresenta um dos maiores crescimentos na produção do país (CANASSAT, 2013). O Estado dispõe de 39 cidades produtoras da cultura e 24 usinas instaladas, sendo que a implantação de outras usinas estão em fase de estudo (BIOSUL, 2013).

Diversas espécies de insetos dependendo da sua flutuação populacional podem ocasionar prejuízos à cultura da cana-de-açúcar (DINARDO-MIRANDA et al., 2011). *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) é considerado inseto de grande importância nessa cultura (DINARDO-MIRANDA et al., 2012), além de outras gramíneas, como arroz (LV et al., 2011), milho e sorgo. Este inseto passa a maior parte de seu ciclo biológico no interior do colmo da planta hospedeira, onde fica protegido contra a ação dos métodos químicos (CRUZ et al., 2011), tornando indispensável utilização de métodos alternativos para o controle do inseto.

Parasitoides são reguladores populacionais de insetos e se destacam como o principal grupo de inimigos naturais em sistemas agrícolas (PANIZZI e PARRA, 2009). A maioria dos parasitoides pertence às ordens Hymenoptera e Diptera (QUICKE, 1997; GODFRAY, 1994) e podem ser endoparasitoides ou ectoparasitoides, idiobiontes ou cenobiontes, solitários ou gregários, primários ou hiperparasitoides, especialistas ou generalistas com potencial para o controle biológico (HARVEY et al., 2013). Na ordem Hymenoptera, os parasitoides comumente utilizados para o controle biológico de insetos pertencem às famílias Aphelinidae (FERNANDES et al., 2000), Braconidae (VACARI et al., 2012), Encyrtidae (MARCHIORI et al., 2004; RODRÍGUEZ et al., 2010), Ichneumonidae (FERNANDES et al., 2010), Pteromalidae (MONTILLA et al., 2007), Scelionidae (CARNEIRO et al., 2009), Trichogrammatidae (PRATISSOLI et al., 2005; PERVEEN e SULTAN, 2012) e Eulophidae (PEREIRA et al., 2010b; FAVERO et al.,

2013). Essas espécies de parasitoides têm preferência por parasitar fases específicas do hospedeiro (HE et al., 2011).

*Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) é um endoparasitoide larval utilizado em programas de controle biológico de *D. saccharalis* (PINHEIRO et al., 2010). Espécies de Eulophidae também têm sido estudadas visando sua utilização em programas de controle biológico (PEREIRA et al., 2010a; CHICHERA et al., 2012; FAVERO et al., 2013; RODRIGUES et al., 2013; VARGAS et al., 2013). *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide com potencial para ser utilizado como alternativa de controle de lepidópteros-praga (BAITHA et al., 2004; LA SALLE e POLASZEK, 2007; PRASAD et al., 2007). A espécie *T. howardi* foi registrada como parasitoide das famílias Crambidae (CRUZ et al., 2011), Noctuidae, Pyralidae (KFIR et al., 1993; LA SALLE e POLASZEK, 2007) e Plutellidae (SILVA-TORRES et al., 2010a), as quais incluem lepidópteros que ocasionam danos às culturas agrícolas. Recentemente, Vargas et al. (2011) registraram a capacidade desse inseto em parasitar e se desenvolver em larvas e pupas de *D. saccharalis*.

Por outro lado, para o uso de inimigos naturais em programas de controle biológico é extremamente necessário a implementação da multiplicação massal (PASTORI et al., 2008; PEREIRA et al., 2009; PEREIRA et al. 2010b; PASTORI et al., 2012a,b). O sucesso desses programas depende da disponibilidade de técnicas de multiplicação em larga escala de parasitoides e seus hospedeiros, bem como, do conhecimento de suas interações biológicas (PASTORI et al., 2010; PEREIRA et al., 2010a,b; NAKAJIMA et al., 2012). Os parasitoides *C. flavipes* e *T. howardi* possuem hábito gregário e o desenvolvimento é restrito aos recursos nutricionais encontrados em um hospedeiro que pode resultar na competição dos imaturos por estes recursos (HARVEY et al., 2013). Dessa forma, a densidade de parasitoides e o período de exposição ao hospedeiro podem afetar a capacidade de parasitismo (SAGARRA et al., 2000; SILVA-TORRES et al., 2010a,b), a produção de progênie (FOERSTER et al., 2001; CHONG e OETTING, 2006), a razão sexual da progênie (CHOI et al., 2001), a duração do ciclo de vida (ovo-adulto) (SILVA-TORRES e MATTHEWS, 2003; BARBOSA et al., 2008; 2010) e a longevidade de adultos (SILVA-TORRES e MATTHEWS, 2003). Assim, o conhecimento da adequação da densidade de parasitoides e período de parasitismo por hospedeiro é importante para assegurar o número e qualidade de indivíduos produzidos.

Entender os tipos de interações ao se utilizar múltiplas espécies de parasitoides é fundamental para a eficiência desses inimigos naturais em programas de controle biológico aplicado (MILLS, 2006; CHICHERA et al., 2012; YANG et al., 2013). Programas de controle biológico que utilizam múltiplos agentes de controle têm mais chances de serem bem sucedidos que aqueles que utilizam agente único (DENOTH et al., 2002). Parasitoides têm alta especialização comportamental e fisiológica na competição por recursos, porém, aqueles que parasitam o mesmo estágio de desenvolvimento do hospedeiro podem apresentar competição interespecífica (ULYSSEN et al., 2010). Competição interespecífica entre parasitoides podem afetar seu estabelecimento ou eficácia no controle biológico de pragas alvo (YANG et al., 2013).

O método de controle mais indicado para reduzir as populações de *D. saccharalis* é o uso do parasitoide larval *C. flavipes*. A associação desse com o parasitoide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) é sugerida como uma estratégia que pode ser mais eficiente no controle desta praga (BOTELHO et al., 1999; BROGLIO-MICHELETTI et al., 2007; VACARI et al., 2012).

Apesar do parasitismo de lagartas e pupas de *Diatraea* sp. por *T. howardi* (VARGAS et al., 2011), poucas são as informações a respeito da utilização desse parasitoide no controle biológico dessa praga em questão, por exemplo sobre a possibilidade de associar *C. flavipes* e *T. howardi* e possíveis efeitos antagônicos ou sinérgicos entre os parasitoides. Entretanto, para uso desses agentes de controle biológico é fundamental o conhecimento de suas características biológicas e suas interações com o hospedeiro, o que motivou a responder essa questão.

## OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi comparar aspectos biológicos reprodutivos de *T. howardi* e *C. flavipes* multiplicados em lagartas e pupas de *D. saccharalis* e as habilidades para localizar e parasitar lagartas desse lepidóptero em colmos de cana-de-açúcar em laboratório e campo. Para isso foram desenvolvidos os seguintes trabalhos:

1. Desenvolvimento de *T. howardi* e *C. flavipes* em lagartas de *D. saccharalis* expostas a diferentes densidades e períodos de parasitismo;
2. Desenvolvimento de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis* expostas a diferentes densidades de fêmeas e períodos de parasitismo;
3. Eficiência de *T. howardi* e *C. flavipes* para localizar e parasitar lagartas de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar.

Esta Tese está de acordo com as “Normas para Redação de Dissertações e Teses” do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal da Grande Dourados.

## REFERÊNCIAS

- BAITHA, A.; JALALI, S. K.; RABINDRA, R. J.; VENKATESAN, T.; RAO, N. S. Parasitizing efficiency of the pupal parasitoid, *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) on *Chilo partellus* (Swinhoe) at different exposure periods. **Journal of Biological Control**, v. 18, p. 65-68, 2004.
- BARBOSA, L. S.; COURI, M. S.; COELHO, V. M. A. Desenvolvimento de *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas de *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775) (Diptera: Calliphoridae), utilizando diferentes densidades do parasitoide. **Biota Neotropica**, v. 8, p. 49-54, 2008.
- BARBOSA, L. S.; COURI, M. S.; COELHO, V. M. A. Desempenho do parasitoide *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae) utilizando como hospedeiro *Cochliomyia macellaria* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae), sob diferentes tempos de exposição. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 54, p.125-129, 2010.
- BIOSUL - Associação de Produtores de Bioenergia de Mato Grosso do Sul, 2013. Disponível em: <http://www.biosulms.com.br>. Acesso em: 24 jul. 2013.
- BOTELHO, P. S. M.; PARRA, J. R. P.; CHAGAS NETO, J. F.; OLIVEIRA, C. P. B. Associação do parasitoide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e do parasitoide larval *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) no controle de *Diatraea saccharalis* (Fabri.) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 28, p. 49-496, 1999.
- BROGLIO-MICHELETTI, S. M. F.; PEREIRA-BARROS, J. L.; SANTOS, A. J. N.; CARVALHO, L. W. T.; CARVALHO, L. H. T.; OLIVEIRA, C. J. T. Effect of the number of *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) adults released by successive weeks, to control *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, p. 53-58, 2007.
- CANASAT - Monitoramento da cana-de-açúcar, 2013. Disponível em: <http://www.dsr.inpe.br/laf/canasat/>. Acesso em: 24 jul. 2013.
- CARNEIRO, T. R.; FERNANDES, O. A.; CRUZ, I. Influência da competição intraespecífica entre fêmeas e da ausência de hospedeiro no parasitismo de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) sobre ovos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 53, p. 482-486, 2009.
- CHICHERA, R. A.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; BARBOSA, R. H.; PASTORI, P. L.; ROSSONI, C. Capacidade de busca e reprodução de *Trichospilus diatraeae* e *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Interciencia**, v. 37, p. 852-856, 2012.



CHOI, W. I.; YOON, T. J.; RYOO, M. I. Host-size dependent feeding behaviour and progeny sex ratio of *Anisopteromalus calandrae* (Hym.: Pteromalidae). **Journal Applied Entomology**, v. 125, p. 71-77, 2001.

CHONG, J. H.; OETTING, R. D. Functional response and progeny production of the Madeira mealybug parasitoid, *Anagyrus* sp. nov. nr. *sinope*: The effects of host and parasitoid densities. **Biological Control**, v. 39, p. 320-328, 2006.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento, 2013. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 24 jul. 2013.

CRUZ, I.; REDOAN, A. C.; SILVA, R. B.; FIGUEIREDO, M. L. C.; PENTEADO-DIAS, A. M. New record of *Tetrastichus howardi* (Olliff) as a parasitoid of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) on maize. **Scientia Agricola**, v. 68, p. 252-254, 2011.

DENOTH, M.; FRID, L.; MYERS, J. H. Multiple agents in biological control: improving the odds?. **Biological Control**, v. 24, p. 20-30, 2002.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; FRACASSO, J. V.; PERECIN, D. Variabilidade espacial de populações de *Diatraea saccharalis* em canaviais e sugestão de método de amostragem. **Bragantia**, v. 70, p. 577-585, 2011.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; ANJOS, I. A.; COSTA, V. P.; FRACASSO, J. V. Resistance of sugarcane cultivars to *Diatraea saccharalis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, p. 1-7, 2012.

FAVERO, K.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; OLIVEIRA, H. N. de.; COSTA, D. P.; ZANUNCIO, J. C. Biological characteristics of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) are influenced by the number of females exposed per pupa of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Florida Entomologist**, v. 96, p. 583-589, 2013.

FERNANDES, A. M. V.; FARIAS, A. M. I.; FARIAS, C. A. de.; TAVARES, M. T. Ocorrência de *Aphelinus gossypii* Timberlake (Hymenoptera: Aphelinidae) parasitando *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) em algodão no Estado de Pernambuco. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, p. 831-834, 2000.

FERNANDES, L. B. dos.; DIAS FILHO, M. M.; FERNANDES, M. A.; PENTEADO-DIAS, A. M. Ichneumonidae (Hymenoptera) parasitoids of Lepidoptera caterpillars feeding on *Croton floribundus* Spreng (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 54, p. 263-269, 2010.

FOERSTER, L. A.; DOETZER, A. K.; AVANCI, M. R. F. Parasitoides larvais de *Mythimna (Pseudaletia) sequax* Franclemont e capacidade de parasitismo de *Glyptapanteles muesebecki* (Blanchard) em relação ao tempo de exposição, temperatura e densidade de hospedeiros. **Acta Biologica Paranaense**, v. 30, p. 139-149. 2001.

GODFRAY, H. C. J. **Parasitoids, behavioral and evolutionary ecology**. Princeton: Princeton University Press, 1994, 488 p.

HARVEY, J. A.; POELMAN, E. H.; TANAKA, T. Intrinsic inter and intraspecific competition in parasitoid wasps. **Annual Review of Entomology**, v. 58, p. 333-51, 2013.

HE, X. Z.; WANG, Q.; TEULON, D. A. J. Host age preference behavior in *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Aphidiidae). **Journal Insect Behaviour**, v. 24, p. 447-455, 2011.

KFIR, R.; GOUWS, J.; MOORE, S. D. Biology of *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae): a facultative hyperparasitoid of stem borers. **Biocontrol Science and Technology**, v. 3, p. 149-159, 1993.

LA SALLE, J.; POLASZEK, A. Afrotropical species of the *Tetrastichus howardi* species group (Hymenoptera: Eulophidae). **African Entomology**, v.15, p. 45-56, 2007.

LV, J.; WILSON, L. T.; BEUZELIN, J. M.; WHITE, W. H.; REAGAN, T. E.; WAY, M. O. Impact of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) as an augmentative biocontrol agent for the sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) on rice. **Biological Control**, v. 56, p. 159-169, 2011.

MARCHIORI, C. H.; SILVA FILHO, O. M.; PEREIRA, L. A. RIBEIRO, L. C. S.; BORGES, V. R. *Hemencyrtus herbertii* Ashmead (Hymenoptera: Encyrtidae) como parasitoides de dípteros muscóides coletados em Itumbiara, Goiás. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, p. 691-693, 2004.

MILLS, N. Interspecific competition among natural enemies and single versus multiple introductions in biological control. **Progress in Biological Control**, v. 3, p. 191-220, 2006.

MONTILLA, R.; GARCÍA, J. L.; LACRUZ, L.; DURÁN, D. *Spalangia drosophilae* ashmead (Hymenoptera: Pteromalidae) parasitoide de pupas de la mosca de la piña *Melanoloma viatrix* hendel (Diptera: Richardiidae) en Trujillo, Venezuela. **Agronomía Tropical**, v.57, p. 107-112. 2007.

NAKAJIMA, Y.; NAKAGAWA, R.; FUJISAKI, K. Interactions between the winter cherry bug *Acanthocoris sordidus* (Hemiptera: Coreidae) and its egg parasitic wasps. **Applied Entomology and Zoology**, v. 47, p. 35-44, 2012.

PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. **Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 1164 p.

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.

PASTORI, P. L.; MONTEIRO, L. B.; BOTTON, M.; PRATISSOLI, D. Efeito da idade do parasitoide e do hospedeiro na reprodução de *Trichogramma pretiosum* Riley

(Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Bonagota salubricola* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, p. 349-353, 2010.

PASTORI, P. L.; PEREIRA, F. F.; ANDRADE, G. S.; SILVA, R. O.; ZANUNCIO, J. C.; PEREIRA, A. I. A. Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) in pupae of two lepidopterans defoliators of eucalypt. **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 38, p. 91-93, 2012a.

PASTORI, P. L.; PEREIRA, F. F.; PRATISSOLI, D.; ZANUNCIO, J. C.; OLIVEIRA, F. A. L.; ZAIDAN, U. R. Densidade de fêmeas de *Palmistichus elaeisis* Delvare & Lasalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) para sua reprodução em pupas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 79, p. 525-532, 2012b.

PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; SERRÃO, J. E.; PASTORI, P. L.; RAMALHO F. S. Reproductive performance of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) with previously refrigerated pupae of *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 69, p. 865-869, 2009.

PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; PASTORI, P. L.; PEDROSA, A. R.; OLIVEIRA, H. N. Parasitismo de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) em hospedeiro alternativo sobre plantas de eucalipto em semi-campo. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, p.715-720, 2010a.

PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, T. V.; PRATISSOLI, D.; PASTORI, P. L. The density of females of the *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). **Anais da Acadadêmia Brasileira de Ciências**, v. 81, p. 323-331, 2010b.

PERVEEN, F.; SULTAN, R. Effects of the host and parasitoid densities on the quality production of *Trichogramma chilonis* on lepidopterous (*Sitotroga cerealella* and *Corcyra cephalonica*) eggs. **Arthropods**, v. 1, p. 63-72, 2012.

PINHEIRO, D. O.; ROSSI, G. D.; CÔNSOLI, F. L. External morphology of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) during larval development. **Zoologia**, v. 27, p. 986-992, 2010.

PRASAD, K. S.; ARUNA, A. S.; KUMAR, V.; KARIAPPA, B. K. Feasibility of mass production of *Tetrastichus howardi* (Olliff), a parasitoid of leaf roller (*Diaphania pulverulentalis*), on *Musca domestica* (L.). **Indian Journal of Sericulture**, v. 46, p. 89-91, 2007.

PRATISSOLI, D.; ZANUNCIO, J. C.; VIANNA, U. R.; ANDRADE, J. S.; MOREIRA, T. B.; ANDRADE, G. S. Biological characteristics of *Trichogramma pretiosum* and *Trichogramma acacioi* (Hym.: Trichogrammatidae), parasitoids of the avocado defoliator *Nipteria panacea* (Lep.: Geometridae), on eggs of *Anagasta kuehniella* (Lep.: Pyralidae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, p. 7-13, 2005.

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

RODRÍGUEZ, J. M.; RODRÍGUEZ-VELEZ, B.; ZARAGOZA-CABALLERO, S.; NOGUERA-MARTÍNEZ, A.; GONZÁLEZ-SORIANO, E.; RAMÍREZ-GARCÍA, E. Diversity of Encyrtidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) collected with Malaise traps in the tropical dry forest of San Javier, Sonora, Mexico. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, v. 81, p. 813-822, 2010.

RODRIGUES, M. A. T.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; PASTORI, P. L.; GLAESER, D. F.; OLIVEIRA, H. N. de.; ZANUNCIO, J. C. Thermal requirements and generation estimates of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) in sugarcane producing regions of Brazil. **Florida Entomologist**, v. 96, p. 154-159, 2013.

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

SILVA-TORRES, C. S. A. da.; MATTHEWS, R. W. Development of *Melittobia australica* Girault and *M. digitata* Dahms (Parker) (Hymenoptera: Eulophidae) parasiting *Neobellieria bullata* (Parker) (Diptera: Sarcophagidae) puparia. **Neotropical Entomology**, v. 32, p. 645-651, 2003.

SILVA-TORRES, C. S. A. da.; PONTES, I. V. A. F.; TORRES, J. B.; BARROS, R. New records of natural enemies of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) in Pernambuco, Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 39, p. 835-838, 2010a.

SILVA-TORRES, C. S. A. da.; TORRES, J. B.; BARROS, R.; PALLINI, A. Parasitismo de traça-das-crucíferas por *Oomyzus sokolowskii*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, p. 638-645, 2010b.

ULYSHEN, M. D.; DUAN, J. J.; BAUER, L. S. Interactions between *Spathius agrili* (Hymenoptera: Braconidae) and *Tetrastichus planipennisi* (Hymenoptera: Eulophidae), larval parasitoids of *Agrilus planipennis* (Coleoptera: Buprestidae). **Biological Control**, v.1, 52, p. 188-193, 2010.

UNICA - União da Indústria de Cana-de-açúcar, 2013. Disponível em: <http://www.unica.com.br>. Acesso em: 24 jul. 2013.

VACARI, A. M.; DE BORTOLI, S. A.; BORBA, D. F.; MARTINS, M. I. E. G. Quality of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) reared at different host densities and the estimated cost of its commercial production. **Biological Control**, v. 63, p. 102-106, 2012.

VARGAS, E. L.; PEREIRA, F. F.; TAVARES, M. T.; PASTORI, P. L. Record of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Diatraea* sp. (Lepidoptera: Crambidae) in sugarcane crop in Brazil. **Entomotropica**, v. 26, p. 135-138, 2011.

VARGAS, E. L.; PEREIRA, F. F.; GLAESER, D. F.; CALADO, V. R. F.; OLIVEIRA, F. G. de.; PASTORI, P. L. Searching and parasitism of *Diatraea saccharalis*

(Lepidoptera: Crambidae) by *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae). **Acta Biológica Colombiana**, v. 18, p. 259-264, 2013.

YANG, S.; DUAN, J. J.; LELITO, J.; DRIESCHE, R. V. Multiparasitism by *Tetrastichus planipennisi* (Hymenoptera: Eulophidae) and *Spathius agrili* (Hymenoptera: Braconidae): Implication for biological control of the emerald ash borer (Coleoptera: Buprestidae). **Biological Control**, v. 65, p. 118-123, 2013

Capítulo I

**Desenvolvimento de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) e *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) em lagartas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) expostas a diferentes densidades e períodos de parasitismo**

**Desenvolvimento de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) e *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) em lagartas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) expostas a diferentes densidades e períodos de parasitismo**

**RESUMO:** O conhecimento da adequação da densidade de parasitoides e período de parasitismo por hospedeiro é importante para assegurar o número e qualidade de indivíduos produzidos. O objetivo foi caracterizar *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) e *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae), biologicamente determinando o parasitismo, emergência, progênie, ciclo de vida (ovo-adulto) e razão sexual em diferentes densidades e períodos de parasitismo em lagartas de terceiro ínstar de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae). Lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis* foram expostas individualmente às densidades de uma ou três fêmeas de *T. howardi* e de *C. flavipes* por diferentes períodos de parasitismo (0,016; 0,5; 1; 12; 24; 48; 72 e 96 horas) em recipientes plásticos (100 mL). Os hospedeiros parasitados foram transferidos para tubos de vidro (1,5 x 10 cm) e permaneceram em câmara climatizada (BOD) a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa (UR) e fotofase de 14 horas até a emergência dos adultos parasitoides. Os parasitoides *C. flavipes* e *T. howardi* parasitaram lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis* em todas as combinações de densidades de fêmeas e períodos de parasitismo. A maior porcentagem de emergência de *T. howardi* ocorreu em função da maior exposição ao parasitismo. Por outro lado para *C. flavipes* ela se manteve semelhante independente do período de parasitismo. A menor duração do ciclo de vida (ovo-adulto) de *T. howardi* foi 17,00 dias na densidade 3:1 com 12 horas de parasitismo e de *C. flavipes* foi de 19,00 dias na densidade 1:1 e 3:1 com 24 horas de parasitismo. O número de descendentes de *C. flavipes* por lagarta decresceu com o aumento do período de parasitismo e o inverso foi observado para *T. howardi*. De maneira geral, três fêmeas de *T. howardi* com 96 horas de parasitismo e três de *C. flavipes* com trinta minutos de parasitismo em lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis* foram as combinações mais apropriadas para multiplicação desses parasitoides por proporcionar o maior parasitismo, emergência e número de descendentes por fêmea parasitoide.

**Palavras-chave:** multiplicação de parasitoides, períodos de parasitismo, densidade de parasitoide

**ABSTRACT:** Knowledge of the adequacy of the density of parasitoids and period of parasitism by host is important to ensure the quality and number of individuals produced. The objective was to characterize *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) and *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae), biologically determining of parasitism, emergence, progeny, life cycle (egg-adult) and sex ratio in different densities and periods of parasitism in third instar larvae of *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae). Third-instar larvae of *D. saccharalis* densities were exposed individually to one or three females of *T. howardi* and *C. flavipes* for different periods of parasitism (0.016, 0.5, 1, 12, 24, 48, 72 and 96 hours) in plastic recipient (100 ml). The parasitized hosts were transferred to glass tubes (1.5 x 10 cm) and kept in a climatic chamber (BOD) at  $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 10\%$  RH and 14 hours photoperiod until adult emergence parasitoids. The parasitoid *C. flavipes* and *T. howardi* parasitized third instar *D. saccharalis* all combinations of densities of females and periods of parasitism. The highest percentage of emergence of *T. howardi* was due to greater exposure to parasitism. On the other hand, to *C. flavipes* she remained similar regardless of the period of parasitism. The shorter life cycle (egg-adult) of *T. howardi* was 17.00 days in density 3:1 with 12 hours of riding and *C. flavipes* was 19.00 days in density 1:1 and 3:1 with 24 hours of parasitism. The number of descendants of *C. flavipes* by caterpillar decreased with the increase of the period of parasitism and the reverse was observed for *T. howardi*. In general, three females of *T. howardi* within 96 hours of parasitism and three *C. flavipes* with thirty minutes of parasitism in third instar larvae of *D. saccharalis* were the most appropriate combinations for multiplication of these parasitoids by providing the highest parasitism, emergence and number of offspring per female parasitoid.

Keywords: multiplication of parasitoids, periods of parasitism, parasitoid of density



## INTRODUÇÃO

A utilização de parasitoides para o manejo de insetos considerados pragas tem se tornado alternativa promissora devido à eficiência e aos baixos custos relativos (BARBOSA et al., 2008; FAVERO et al., 2013) e ainda por representarem menor risco ambiental (BARRAT et al., 2010). A coleta, identificação e a criação de inimigos naturais em laboratório são etapas importantes para o controle biológico aplicado. Além disso, o conhecimento de aspectos morfológicos, comportamentais e principalmente biológicos, constituem informações básicas para selecionar espécies ou linhagens de parasitoides com potencial para o controle de insetos que ocasionam danos nas culturas (PARRA et al., 2002).

Parasitoides têm preferência por fases específicas do hospedeiro (HE et al., 2011). *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) é um endoparasitoide larval largamente utilizado em programas de controle biológico da broca-da-cana *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) (PINHEIRO et al., 2010). É importante ressaltar, que *D. saccharalis*, pode causar prejuízos expressivos nas culturas da cana-de-açúcar, milho, sorgo (CRUZ et al., 2011) e arroz (LV et al., 2011). Este lepidóptero passa a maior parte de seu ciclo no interior dos colmos das plantas, dificultando o controle com produtos químicos (CRUZ et al., 2011). Frente ao exposto, o controle biológico tem sido evidenciado como alternativa promissora para o controle desse inseto (RODRIGUES et al., 2013).

*Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide de insetos, que ocasionam danos em culturas agrícolas e apresenta potencial para ser utilizado como alternativa de controle (BAITHA et al., 2004; LA SALLE e POLASZEK, 2007; PRASAD et al., 2007; VARGAS et al., 2011). Uma peculiaridade desse parasitoide é a sua capacidade de parasitar as fases de larva e pupa do hospedeiro *D. saccharalis* (VARGAS et al., 2011). Além, da habilidade de penetrar nas galerias produzidas nas plantas de cana-de-açúcar, por este lepidóptero (FELIX et al., 2005).

Multiplicação massal dos parasitoides é um processo necessário para programas de controle biológico (PASTORI et al., 2008; PEREIRA et al., 2009b; PEREIRA et al. 2010b; PASTORI et al., 2012b). O sucesso desses programas depende da disponibilidade de técnicas de multiplicação em larga escala, tanto dos parasitoides

quanto de seus hospedeiros e do conhecimento de suas interações biológicas (PASTORI et al., 2010; PEREIRA et al., 2010 a,b; NAKAJIMA et al., 2012). O desenvolvimento de metodologias de multiplicação massal depende do conhecimento de aspectos bióticos como maturidade e razão sexual, tipo de reprodução, longevidade, duração do ciclo de vida (ovo-adulto), especificidade, discriminação hospedeira, capacidade de parasitismo, além da sensibilidade dos parasitoides a fatores abióticos como temperatura, luz e umidade (GODFRAY, 1994; FAVERO et al., 2013; PASTORI et al., 2013, RODRIGUES et al., 2013).

Os parasitoides *C. flavipes* e *T. howardi* possuem hábito gregário e o desenvolvimento é restrito aos recursos nutricionais encontrados em um hospedeiro que pode resultar na competição dos imaturos por estes recursos (HARVEY et al., 2013). Dessa forma, a densidade de parasitoides e o período de exposição ao hospedeiro podem afetar a capacidade de parasitismo (SAGARRA et al., 2000; SILVA-TORRES et al., 2010a,b), a produção de progênie (FOERSTER et al., 2001; CHONG e OETTING, 2006), a razão sexual da progênie (CHOI et al., 2001), a duração do ciclo de vida (ovo-adulto) (SILVA-TORRES e MATTHEWS, 2003; BARBOSA et al., 2008; 2010) e a longevidade de adultos (SILVA-TORRES e MATTHEWS, 2003). Assim, o conhecimento da adequação da densidade de parasitoides e período de parasitismo por hospedeiro é importante para assegurar o número e qualidade de indivíduos produzidos.

Investigar a biologia reprodutiva de parasitoides com métodos adequados é importante para aprimorar as técnicas de multiplicação e viabilizar os custos de produção de inimigos naturais (PEREIRA et al., 2009a; FAVERO et al. 2013). O objetivo do trabalho foi determinar a combinação mais apropriada do período de parasitismo e densidade de fêmeas de *T. howardi* e de *C. flavipes* em lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis* visando não comprometer a qualidade biológica dos descendentes desses parasitoides, para implementação futura de um programa de controle biológico associado.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Entomologia/Controle Biológico (LECOBIOL) da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) em Mato Grosso do Sul, Brasil.

### **Multiplicação do hospedeiro e dos parasitoides.**

*D. saccharalis*: Ovos viáveis foram acondicionados em frascos de vidro (8,5 x 13 cm) contendo dieta artificial a base de farelo de soja, germe de trigo, vitaminas, sais minerais e anticontaminantes para alimentação das lagartas recém eclodidas, onde permaneceram até o terceiro ínstar (ANEXO 1). Essas lagartas foram transferidas para placas de Petri (6,5 x 2,5 cm) contendo uma porção de dieta de realimentação (3 x 1,5 cm) até a formação das pupas (ANEXO 2). As pupas foram recolhidas, sexadas e colocadas 50 (20 machos e 30 fêmeas) por gaiola de PVC (10 x 22 cm) revestidas internamente com folha de papel sulfite como substrato para oviposição. Estes tubos foram fechados com folha de papel sulfite e elástico adaptando procedimentos descritos por Parra (2007) (ANEXO 3).

*C. flavipes*: Adultos do parasitoide foram mantidos em gaiolas de inoculação (recipientes plásticos com capacidade de 100 mL) contendo uma gotícula de mel para alimentação. Lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis*, foram expostas ao parasitismo por fêmea de *C. flavipes* acasalada com 24 horas de emergência. Após serem submetidas ao parasitismo, quatro lagartas foram transferidas para placas de Petri (6,5 x 2,5 cm) contendo uma porção de dieta de realimentação (3 x 1,5 cm) até a formação das pupas de *C. flavipes* à  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa (UR) de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas em sala climatizada. As massas (pupas) foram retiradas e transferidas para as gaiolas de inoculação para a emergência dos adultos parasitoides. Esta metodologia foi adaptada dos procedimentos propostos por Garcia et al. (2009) (ANEXO 3).

*T. howardi*: Adultos do parasitoide foram mantidos em tubos de vidro (2 x 15 cm) vedados com algodão e contendo uma gotícula de mel para alimentação. Pupas de *D. saccharalis*, com 24 a 48 horas de idade, foram expostas ao parasitismo de fêmeas de *T. howardi* durante 24 horas e, após esse período, individualizadas e mantidas a  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa (UR) de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas em câmara climatizada até a emergência dos adultos (VARGAS et al., 2011) (ANEXO 3).

### **Desenvolvimento experimental.**

Lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis* foram expostas individualmente para cada densidade, uma ou três fêmeas de *T. howardi* e de *C.*

*flavipes*, por diferentes períodos de parasitismo (0,016; 0,5; 1; 12; 24; 48; 72 e 96 horas). Cada tratamento foi acondicionado em recipientes plásticos (100 mL) contendo uma porção de dieta de realimentação (3 x 1,5 cm) para as lagartas e uma gotícula de mel para alimentação dos parasitoides. Os hospedeiros parasitados foram transferidos para tubos de vidro (1,5 x 10 cm) contendo uma gotícula de mel para alimentação, e vedados com algodão para a emergência dos adultos parasitoides. O experimento foi mantido a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa (UR) e fotofase de 14 horas.

As características biológicas avaliadas foram o parasitismo [(número de lagartas de *D. saccharalis* com emergência de parasitoides + lagartas sem emergência de adultos de *D. saccharalis*)/(número total de lagartas)  $\times$  100]; a emergência [(número de lagartas de *D. saccharalis* com emergência de adultos dos parasitoides)/(número de lagartas parasitadas)  $\times$  100]; a duração do ciclo de vida (ovo -adulto); o número de parasitoides emergidos por lagarta (progênie) e a razão sexual (número de fêmeas/número de adultos). A mortalidade natural do hospedeiro foi observada nas condições do experimento, com 50 lagartas de *D. saccharalis* individualizadas em recipientes plásticos (100 mL) contendo uma porção de dieta de realimentação sem a presença de parasitoides sendo determinado o número de adultos de *D. saccharalis* emergidos. O sexo dos parasitoides foi determinado de acordo com o dimorfismo das antenas de *T. howardi* (LA SALLE e POLASZEK, 2007) e de *C. flavipes* (WILKINSON, 1928).

### **Análise estatística.**

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado no esquema fatorial 2 x 2 x 8 (duas espécies parasitoides, duas densidades de fêmeas e oito períodos de parasitismo), com 32 tratamentos e cinco repetições, sendo cada repetição representada por um grupo de dez lagartas de *D. saccharalis* individualizadas, totalizando 50 lagartas por tratamento. Os dados das características biológicas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a 5% de probabilidade, sendo os valores significativos submetidos à análise de regressão. A equação que melhor se ajustou aos dados foi escolhida a partir do modelo que apresentou todos os parâmetros significativos, com base no coeficiente de determinação ( $R^2$ ), na significância dos coeficientes de regressão ( $\beta_i$ ) e de regressão pelo teste F (até 5% de probabilidade), e no fenômeno biológico estudado.

## RESULTADOS

O parasitismo por *T. howardi* não apresentou interação entre as densidades de fêmeas (uma e três) e períodos de parasitismo (0,016; 0,5; 1; 12; 24; 48; 72 e 96 horas) ( $F= 0,083$ ;  $P= 0,9990$ ) e também não foi afetado pela densidade de fêmeas ( $F= 0,583$ ;  $P= 0,4464$ ) (Tabela 1). Assim, o período de parasitismo foi analisado isoladamente, verificando-se o aumento proporcional na porcentagem de parasitismo nos maiores períodos de exposição de *D. saccharalis* ao parasitoide *T. howardi* ( $F= 9,1282$ ;  $P= 0,0234$ ) (Figura 1). Para *C. flavipes* ocorreu interação entre a densidade de fêmeas (uma ou três) e período de parasitismo (0,016; 0,5; 1; 12; 24; 48; 72 e 96 horas) ( $F= 11,0916$ ;  $P= 0,0015$ ) (Figura 2) (Tabela 2).

A porcentagem de emergência de *T. howardi* não evidencia interação entre a densidade de fêmeas e período de parasitismo ( $F= 1,472$ ;  $P= 0,1919$ ), do mesmo modo com a densidade de fêmeas ( $F= 1,262$ ;  $P= 0,2861$ ) (Tabela 1). Densidade de fêmeas não afetou o parasitismo e a emergência de *T. howardi*. Dessa forma, os dados foram analisados somente para o fator período de parasitismo, o qual aumentou a porcentagem de emergência de *T. howardi* nos maiores períodos ( $F= 16,9229$ ;  $P= 0,0063$ ) (Figura 3). A porcentagem de emergência para *C. flavipes* não apresentou significância entre a interação densidade de fêmeas e período de parasitismo ( $F= 0,615$ ;  $P= 0,7432$ ), e quando analisados isoladamente para densidade de fêmeas ( $F= 0,222$ ;  $P= 0,6382$ ) e período de parasitismo ( $F= 0,6088$ ;  $P= 0,6437$ ) (Tabela 2).

O número de descendentes de *T. howardi* em lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis* não foi afetado pela interação densidade de fêmeas e período de parasitismo ( $F= 0,313$ ;  $P= 0,9471$ ) (Tabela 1), mas houve efeito em função da densidade de fêmeas ( $F= 6,756$ ;  $P= 0,0103$ ) e do período de parasitismo ( $F= 11,301$ ;  $P= 0,0000$ ), apresentando maior progênie na densidade 3:1 nos períodos de parasitismo superiores (Figura 4). A progênie de *C. flavipes* foi semelhante quando analisada a interação densidade de fêmeas e período de parasitismo ( $F= 0,313$ ;  $P= 0,9471$ ) (Tabela 2), porém significativa quando analisada em função da densidade de fêmeas ( $F= 6,756$ ;  $P= 0,0103$ ) e período de parasitismo ( $F= 11,301$ ;  $P= 0,0000$ ), sendo o número de descendentes inversamente proporcionais as maiores densidades de fêmeas e períodos de parasitismo (Figura 5).

A menor duração do ciclo de vida (ovo-adulto) de *T. howardi* foi de  $17,00 \pm 0,00$  dias na densidade 3:1 durante 12 horas de parasitismo e a maior  $35,00 \pm 0,00$  dias

na densidade 1:1 durante 24 horas de parasitismo. No entanto, foi semelhante quando analisada entre a interação densidade de fêmea e período de parasitismo ( $F= 1,042$ ;  $P= 0,4046$ ) na densidade de fêmeas ( $F= 0,491$ ;  $P= 0,4844$ ) e período de parasitismo ( $F= 0,0911$ ;  $P= 0,7730$ ) (Tabela 1). Para *C. flavipes* o menor ciclo de vida foi de  $19,00 \pm 0,00$  dias na densidade 1:1 e 3:1 durante 24 horas de parasitismo e a maior  $23,11 \pm 0,27$  dias na densidade 3:1 durante 48 horas de parasitismo. Sendo semelhante quando analisada na interação densidade de fêmeas e período de parasitismo ( $F= 0,307$ ;  $P= 0,9499$ ) e densidade de fêmea ( $F= 1,064$ ;  $P= 0,3040$ ) (Tabela 2), porém significativa quando analisada em função do período de parasitismo ( $F= 17,0606$ ;  $P= 0,0061$ ) (Figura 6).

A razão sexual em *T. howardi* apresentou média geral de  $0,94 \pm 0,01$ , e não foi afetada pela interação densidade de fêmeas e período de parasitismo ( $F= 1,596$ ;  $P= 0,1524$ ) e quando analisados isoladamente para densidade de fêmeas ( $F= 0,293$ ;  $P= 0,7461$ ) e período de parasitismo ( $F= 0,8536$ ;  $P= 0,3912$ ) (Tabela 1). Assim, como para *C. flavipes* em densidade de fêmeas ( $F= 1,472$ ;  $P= 0,2270$ ), período de parasitismo ( $F= 1,1272$ ;  $P= 0,4379$ ) e sua interação ( $F= 2,278$ ;  $P= 0,3314$ ) com média geral de  $0,55 \pm 0,02$  (Tabela 2).

## DISCUSSÃO

*Tetrastichus howardi* e *C. flavipes* parasitaram lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis* nas duas combinações de densidades de fêmeas e períodos de parasitismo, indicando o potencial de adaptação desses parasitoides a densidade fêmeas e período de exposição ao hospedeiro. O parasitismo de *D. saccharalis* por *C. flavipes* foi proporcional ao aumento da densidade de fêmeas e período de exposição do hospedeiro ao parasitoide. No entanto, o desempenho reprodutivo de *C. flavipes* foi superior nos menores períodos expostos ao hospedeiro *D. saccharalis*, enquanto para o parasitoide *T. howardi* o parasitismo, emergência e a produção de descendentes apresentou relação proporcional ao acréscimo do período de parasitismo em lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis*. O desenvolvimento do parasitoide está intimamente associado ao tamanho e qualidade do hospedeiro (PASTORI et al., 2012a), bem como à densidade de parasitoides e período de exposição do hospedeiro, já que esse influencia no tamanho da prole (BARBOSA et al., 2008; 2010). Resultados semelhantes de parasitismo foram obtidos para o parasitoide *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov)

(Hymenoptera: Eulophidae) em lagartas de terceiro ínstar de *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Plutellidae) indicando que a taxa de parasitismo praticamente dobrou, de aproximadamente 40%, em 24 horas, para 80%, em 72 horas de exposição ao hospedeiro (SILVA-TORRES et al., 2010). Outros autores também constataram que houve aumento na porcentagem de parasitismo com o período de duas horas em relação à uma hora de exposição de larvas de segundo ínstar de *Mythimna (Pseudaletia) sequax* Franclemont (Lepidoptera: Noctuidae) ao parasitoide *Glyptapanteles muesebecki* (Blanchard) (Hymenoptera: Braconidae) (FOERSTER et al., 2001). É provável que em condições de confinamento, com o aumento do período de exposição do hospedeiro os parasitoides sejam estimulados a continuar parasitando por estar em contato com os mesmos. O maior período de exposição ao hospedeiro foi um fator importante para incremento na taxa de parasitismo de *C. flavipes* e *T. howardi*.

A maior taxa de emergência da progênie de *T. howardi* proveniente do aumento do período de parasitismo evidencia que estes são mais adequados para a multiplicação do parasitoide em lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis*. Parasitoides sinovigênicos necessitam de tempo para a produção de novos ovos durante a vida adulta e, portanto, são limitados pelo tempo para a expressão de todo o seu potencial de parasitismo e emergência (PAPAJ, 2000). No entanto, estudos fisiológicos sobre a produção e maturação de ovos em *T. howardi* são necessários para maiores esclarecimentos. Por outro lado, os períodos de parasitismo avaliados não afetaram a emergência de *C. flavipes*, podendo estar relacionado ao fato de ser provigênicos, apresentando quantidade fixa de ovos na fase adulta (HEIMPEL e ROSENHEIM, 1998). Outra hipótese que poderia explicar a constante taxa de emergência por *C. flavipes* seria que após introduzir o ovipositor no hospedeiro fêmeas desse parasitoide depositam seus ovos em sucessão (CAMPOS-FARINHA et al., 2000). E pelo fato de possuir número limitado de ovos durante a fase adulta, a emergência da progênie pode ser em geral de tamanho constante durante todo período de parasitismo.

A progênie de *T. howardi* e *C. flavipes* foi afetada pelo número de fêmeas e períodos de parasitismo por lagarta de terceiro ínstar de *D. saccharalis*. O número de descendentes de *C. flavipes* por hospedeiro decresce com o aumento do período de parasitismo, o inverso foi observado para o parasitoide *T. howardi*. Observações semelhantes ao de *T. howardi* foram constatadas com o parasitoide *G. muesebecki* em lagartas de segundo ínstar de *M. sequax*, confirmando uma relação diretamente proporcional entre o período de exposição e o tamanho da progênie (FOERSTER et al.,

2001). A proporção de fêmeas parasitoides por hospedeiro pode afetar a fecundidade e a redução da eficiência dos sistemas de multiplicação massal, principalmente devido ao aumento da concorrência pelos estágios imaturos dentro do mesmo hospedeiro (SAGARRA et al., 2000). Além disso, quantidades inadequadas de fêmeas parasitoides podem reduzir ou aumentar o número de ovos por hospedeiro e a quantidade de toxinas injetadas nas pupas pelas fêmeas parasitoides. As toxinas são necessárias para reduzir a resposta imunológica do hospedeiro, um mecanismo de defesa utilizado para encapsular ovos ou larvas do parasitoide (PENNACCHIO e STRAND, 2006). Assim, os ovos de parasitoides podem ser encapsulados e mortos pelos hemócitos das pupas quando a densidade de fêmeas do parasitoide por hospedeiro é baixa para suprimir a resposta imune. No entanto, doses elevadas de toxinas injetadas por muitas fêmeas por pupa podem matar o hospedeiro antes que ocorra o desenvolvimento completo do imaturo (STRAND, 2008; ANDRADE et al., 2010).

A ausência de progênie de *T. howardi* na densidade de 1:1 e 3:1 durante um minuto de parasitismo, pode estar relacionada ao período insuficiente da fêmea parasitoide reconhecer lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis* como adequada para oviposição, impossibilitando nesse período de um minuto expressar seu potencial reprodutivo. Caso tenha ocorrido a deposição de ovos, estes podem estar sujeitos ao encapsulamento e melanização de seus ovos pela defesa imunológica do hospedeiro *D. saccharalis*. Estes mecanismos constituem a principal defesa de insetos (CARTON et al., 2008). Por outro lado, os parasitoides podem evitar a encapsulação e melanização por injeção de partículas que são compatíveis aos vírus, polidnavírus e venenos no hospedeiro para interferir no reconhecimento imunológico (ASGARI, 2006; PENNACCHIO e STRAND, 2006). O superparasitismo pode aumentar a sobrevivência da progênie de parasitoides por sobrecarregar a capacidade imune celular do hospedeiro (ANDRADE et al., 2010).

O ciclo de vida (ovo-adulto) de *C. flavipes* apresentou tendência proporcional ao aumento do período de parasitismo, sendo maior durante 48, 72 e 96 horas de parasitismo. Variações na duração do ciclo de vida podem ocorrer devido a diferenças na aceitabilidade dos parasitoides às espécies hospedeiras. O parasitoide *C. flavipes* responde e é influenciado por alterações bioquímicas na composição da hemolinfa do hospedeiro *D. saccharalis*, e estas mudanças ocorrem para facilitar a invasão do parasitoide e tornar o ambiente interno do hospedeiro adequado para o desenvolvimento imaturo do parasitoide (SALVADOR e CÔNSOLI, 2008). No entanto,



a competição por nutrientes (PEREIRA et al., 2010b), a concorrência entre imaturos, com o combate físico ou supressão fisiológica podem reduzir o período de desenvolvimento de ovo a adulto do parasitoide (BRODEUR e BOIVIN, 2004).

O superparasitismo pode ser uma estratégia adaptativa, no sentido de que uma fêmea, ao ovipositar em um hospedeiro anteriormente parasitado, alcançaria uma expectativa reprodutiva mais elevada do que se decidisse rejeitá-lo (MANGEL, 1992). Dependendo da espécie parasitoide, o superparasitismo decresce o número de fêmeas da progênie (SOARES et al. 2009). No entanto, uma fêmea parasitoide só pode evitar o superparasitismo quando reconhece que um hospedeiro tenha sido anteriormente parasitado (GODFRAY, 1994). Algumas espécies de parasitoides são capazes de ajustar o número e o sexo dos descendentes em função da relação entre o número de fêmeas progenitoras e a disponibilidade de hospedeiro (GODFRAY, 1994; BURTON-CHELLEW et al., 2008), com o tamanho ou qualidade do recurso hospedeiro (AMALIN et al., 2005; SOARES et al., 2009; PASTORI et al., 2012a). A razão sexual de *T. howardi* foi acima de 0,87 sendo este atributo importante para sistemas de multiplicação massal de insetos, experimentos de laboratório e seleção de indivíduos para liberação no campo, pois as fêmeas parasitoides são responsáveis pela geração subsequente (AMALIN et al., 2005).

A utilização de parasitoides em programas de controle biológico depende do seu desenvolvimento e reprodução em hospedeiros preferenciais ou alternativos, que devem apresentar adequada condição nutricional e baixo custo de produção (FAVERO et al., 2013). Sabe-se que *C. flavipes* já é utilizado com sucesso no controle de lepidópteros-praga (VACARI et al., 2012). E *T. howardi* parasitou e se desenvolveu em lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis*, supondo possuir elevada plasticidade de adaptação, pois é capaz de se desenvolver em lagartas e pupas de *D. saccharalis*. As informações obtidas nesse trabalho são relevantes para multiplicação massal desses parasitoides, ampliando o conhecimento no processo de produção. Além disso, permite estimar a quantidade de parasitoides a serem produzidos a uma dada densidade de fêmeas e período de parasitismo para *T. howardi* e *C. flavipes*. Visando a implementação futura de um programa de controle biológico, o parasitoide *C. flavipes* possui uma ação mais intensa nas primeiras horas, enquanto *T. howardi* possui uma ação mais constante com tendência a ser mais efetivo em maiores períodos. Este fato corrobora para um programa de controle biológico, utilizando duas espécies, o que poderia favorecer a maior eficiência de parasitismo no hospedeiro *D. saccharalis*.

## CONCLUSÃO

De maneira geral, três fêmeas de *T. howardi* com 96 horas de parasitismo e três de *C. flavipes* com trinta minutos de parasitismo em lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis* foram as combinações mais apropriadas para multiplicação desses parasitoides por proporcionar o maior parasitismo, emergência e número de descendentes por fêmea parasitoide.

## REFERÊNCIAS

- AMALIN, D. M.; PEÑA, J. E.; DUNCAN, R. E. Effects of host age, female parasitoid age, and host plant on parasitism of *Ceratogramma etiennei* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Florida Entomologist**, v. 88, p. 77-82, 2005.
- ANDRADE, G. S.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C.; ZANUNCIO, T. V.; LEITE, G. L. D.; POLANCZYK, R. A. Immunity of an alternative host can be overcome by higher densities of its parasitoids *Palmistichus elaeisis* and *Trichospilus diatraeae*. **PLoS ONE**, v. 5, e13231, 2010.
- ASGARI, S. Venom proteins from polyDNA virus-producing endoparasitoids: their role in host parasite interactions. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 61, p. 146-156, 2006.
- BAITHA, A.; JALALI, S. K.; RABINDRA, R. J.; VENKATESAN, T.; RAO, N. S. Parasitizing efficiency of the pupal parasitoid, *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) on *Chilo partellus* (Swinhoe) at different exposure periods. **Journal of Biological Control**, v. 18, p. 65-68, 2004.
- BARBOSA, L. S.; COURI, M. S.; COELHO, V. M. A. Desenvolvimento de *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas de *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775) (Diptera: Calliphoridae), utilizando diferentes densidades do parasitoide. **Biota Neotropica**, v.8, p. 49-54, 2008.
- BARBOSA, L. S.; COURI, M. S.; COELHO, V. M. A. Desempenho do parasitoide *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae) utilizando como hospedeiro *Cochliomyia macellaria* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae), sob diferentes tempos de exposição. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 54, p. 125-129, 2010.
- BARRAT, B. I. P.; HOWARTH, F. G.; WITHERS, T. M.; KEAN, J. M.; RIDLEY, G. S. Progress in risk assessment for classical biological control. **Biological Control**, v. 52, p. 245-254, 2010.

BRODEUR, J.; BOIVIN, G. Functional ecology of immature parasitoids. **Annual Review of Entomology**, v. 49, p. 27-49, 2004.

BURTON-CHELLEW, M. N.; KOEVOETS, T.; GRILLENBERGER, B. K.; SYKES, E. M.; UNDERWOOD, S. L.; BIJLSMA, K.; GADAU, J.; ZANDE, L. van de.; BEUKEBOOM, L.W.; WEST, S. A.; SHUKER, D. M. Facultative sex ratio adjustment in natural populations of wasps: cues of local mate competition and precision of adaptation. **American Naturalist**, v. 172, p. 393-404, 2008.

CAMPOS-FARINHA, A. E. de. C.; CHAUD-NETO, J.; GOBBI, N. Biologia reprodutiva de *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae). iv. discriminação entre lagartas parasitadas e não parasitadas de *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Pyralidae), tempo de desenvolvimento e razão sexual dos parasitoides. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 67, p. 229-234, 2000.

CARTON, Y.; POIRIÉ, M.; NAPPI, A. J. Insect immune resistance to parasitoids. **Insect Science**, v. 15, p. 67-87, 2008.

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

CHONG, J. H.; OETTING, R. D. Functional response and progeny production of the Madeira mealybug parasitoid, *Anagyrus* sp. nov. nr. *sinope*: The effects of host and parasitoid densities. **Biological Control**, v. 39, p. 320-328, 2006.

CRUZ, I.; REDOAN, A. C.; SILVA, R. B.; FIGUEIREDO, M. L.C.; PENTEADO-DIAS, A. M. New record of *Tetrastichus howardi* (Olliff) as a parasitoid of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) on maize. **Scientia Agricola**, v. 68, p. 252-254, 2011.

FAVERO, K.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; OLIVEIRA, H. N. de.; COSTA, D. P.; ZANUNCIO, J. C. Biological characteristics of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) are influenced by the number of females exposed per pupa of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Florida Entomologist**, v. 96, p. 583-589, 2013.

FELIX, J.; GONZÁLEZ, A.; OCA, F. N. M. de.; RAVELO, H. G.; BAITHA, A. Interaction of *Lixophaga diatraeae* (Townsend) and *Tetrastichus howardi* (Olliff.) for management of *Diatraea saccharalis* (Fab.) in Cuba. **Sugar Tech**, v. 7, p. 5-8, 2005.

FOERSTER, L. A.; DOETZER, A. K.; AVANCI, M. R. F. Parasitoides larvais de *Mythimna (Pseudaletia) sequax* Franclemont e capacidade de parasitismo de *Glyptapanteles muesebecki* (Blanchard) em relação ao tempo de exposição, temperatura e densidade de hospedeiros. **Acta Biologica Paranaense**, v. 30, p. 139-149. 2001.

GARCIA, J. F.; BOTELHO, P. S. M.; MACEDO, L. P. M. 2009. Criação do parasitoide *Cotesia flavipes* em laboratório, p. 199-219. In: BUENO, V. H. P.(Ed.). Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade. Lavras: Editora UFLA. Brasil.

GODFRAY, H. C. J. **Parasitoids, behavioral and evolutionary ecology**. Princeton: Princeton University Press, 1994, 488 p.

HARVEY, J. A.; POELMAN, E. H.; TANAKA, T. Intrinsic inter and intraspecific competition in parasitoid wasps. **Annual Review of Entomology**, v. 58, p. 333-51, 2013.

HE, X. Z.; WANG, Q.; TEULON, D. A. J. Host age preference behavior in *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Aphidiidae). **Journal Insect Behaviour**, v. 24, p. 447-455, 2011.

HEIMPEL, G. E.; ROSENHEIM, J. A. Egg limitation in parasitoids: A review of the evidence and a case study. **Biological Control**, v. 11, p. 160-168, 1998.

LA SALLE, J.; POLASZEK, A. Afrotropical species of the *Tetrastichus howardi* species group (Hymenoptera: Eulophidae). **African Entomology**, v.15, p. 45-56, 2007.

LV, J.; WILSON, L. T.; BEUZELIN, J. M.; WHITE, W. H.; REAGAN, T. E.; WAY, M. O. Impact of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) as an augmentative biocontrol agent for the sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) on rice. **Biological Control**, v. 56, p. 159-169, 2011.

MANGEL, M. Descriptions of superparasitism by optimal foraging theory, evolutionary stable strategies and quantitative genetics. **Evolutionary Ecology**, v. 6, p. 152-169, 1992.

NAKAJIMA, Y.; NAKAGAWA, R.; FUJISAKI, K. Interactions between the winter cherry bug *Acanthocoris sordidus* (Hemiptera: Coreidae) and its egg parasitic wasps. **Applied Entomology and Zoology**, v. 47, p. 35-44, 2012.

PAPAJ, D. R. Ovarian dynamics and host use. **Annual Review of Entomology**, v. 45, p. 423-448, 2000.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. Editora Manole: São Paulo, 2002. 609 p.

PARRA, J. R. P. **Técnicas de criação de insetos para programa de controle biológico**. 6 ed. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 2007. 134 p.

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.

PASTORI, P. L.; MONTEIRO, L. B.; BOTTON, M.; PRATISSOLI, D. Efeito da idade do parasitoide e do hospedeiro na reprodução de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Bonagota salubricola* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, p. 349-353, 2010.

PASTORI, P. L.; PEREIRA, F. F.; ANDRADE, G. S.; SILVA, R. O.; ZANUNCIO, J. C.; PEREIRA, A. I. A. Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) in pupae of two lepidopterans defoliators of eucalypt. **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 38, p. 91-93, 2012a.

PASTORI, P. L.; PEREIRA, F. F.; PRATISSOLI, D.; ZANUNCIO, J. C.; OLIVEIRA, F. A. L.; ZAIDAN, U. R. Densidade de fêmeas de *Palmistichus elaeisis* Delvare & Lasalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) para sua reprodução em pupas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 79, p. 525-532, 2012b.

PASTORI, P. L.; PEREIRA, F. F.; PRATISSOLI, D.; ZANUNCIO, J. C.; OLIVEIRA, F. A. L.; ZAIDAN, U. R. Dispersão de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) em plantio de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 8, p. 85-89, 2013.

PENNACCHIO, F.; STRAND, M. R. Evolution of developmental strategies in parasitic Hymenoptera. **Annual Review Entomology**, v. 51, p. 233-58, 2006.

PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; SERRÃO, J. E.; OLIVEIRA, H. N. de.; FAVERO, K.; GRANCE, E. L. V. Progenie de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) parasitando pupas de *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) de diferentes idades. **Neotropical Entomology**, v. 38, p. 660-664, 2009a.

PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; SERRÃO, J. E.; PASTORI, P. L.; RAMALHO F. S. Reproductive performance of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) with previously refrigerated pupae of *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 69, p. 865-869, 2009b.

PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; PASTORI, P. L.; PEDROSA, A. R.; OLIVEIRA, H. N. Parasitismo de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) em hospedeiro alternativo sobre plantas de eucalipto em semi-campo. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, p. 715-720, 2010a.

PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, T. V.; PRATISSOLI, D.; PASTORI, P. L. The density of females of the *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). **Anais da Acadadêmia Brasileira de Ciências**, v. 81, p. 323-331, 2010b.

PINHEIRO, D. O.; ROSSI, G. D.; CÔNSOLI, F. L. External morphology of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) during larval development. **Zoologia**, v. 27, p. 986-992, 2010.

PRASAD, K. S.; ARUNA, A. S.; KUMAR, V.; KARIAPPA, B. K. Feasibility of mass production of *Tetrastichus howardi* (Olliff), a parasitoid of leaf roller (*Diaphania pulverulentalis*), on *Musca domestica* (L.). **Indian Journal of Sericulture**, v. 46, p. 89-91, 2007.

RODRIGUES, M. A. T.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; PASTORI, P. L.; GLAESER, D. F.; OLIVEIRA, H. N. de.; ZANUNCIO, J. C. Thermal requirements and generation estimates of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) in sugarcane Producing regions of Brazil. **Florida Entomologist**, v. 96, p. 154-159, 2013.

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

SALVADOR, G.; CÔNSOLI, F. L. Changes in the hemolymph and fat body metabolites of *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) parasitized by *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae). **Biological Control**, v. 45, p. 103-110, 2008.

SILVA-TORRES, C. S. A. da.; MATTHEWS, R. W. Development of *Melittobia australica* Girault and *M. digitata* Dahms (Parker) (Hymenoptera: Eulophidae) parasiting *Neobellieria bullata* (Parker) (Diptera: Sarcophagidae) puparia. **Neotropical Entomology**, v. 32, p. 645-651, 2003.

SILVA-TORRES, C. S.A. da.; TORRES, J. B.; BARROS, R.; PALLINI, A. Parasitismo de traça-das-crucíferas por *Oomyzus sokolowskii*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, p. 638-645, 2010.

SOARES, M. A.; GUTIERREZ, C. T.; ZANUNCIO, J. C.; PEDROSA, A. R. P.; LORENZON, A. S. Superparasitismo de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) y comportamiento de defensa de dos hospederos. **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 35, p. 62-65, 2009.

STRAND, M. R. The insect cellular immune response. **Insect Science**, v. 15, p. 1-14, 2008.

VACARI, A. M.; DE BORTOLI, S. A.; BORBA, D. F.; MARTINS, M. I. E. G. Quality of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) reared at different host densities and the estimated cost of its commercial production. **Biological Control**, v. 63, p. 102-106, 2012.

VARGAS, E. L.; PEREIRA, F. F.; TAVARES, M. T.; PASTORI, P. L. Record of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Diatraea* sp. (Lepidoptera: Crambidae) in sugarcane crop in Brazil. **Entomotropica**, v. 26, p. 135-138, 2011.

WILKINSON, D.S. A revision of the Indo-Australian species of the genus *Apanteles* (Hym.: Braconidae). Part I. **Bulletin of Entomological Research**, v. 19, p. 79-105, 1928.

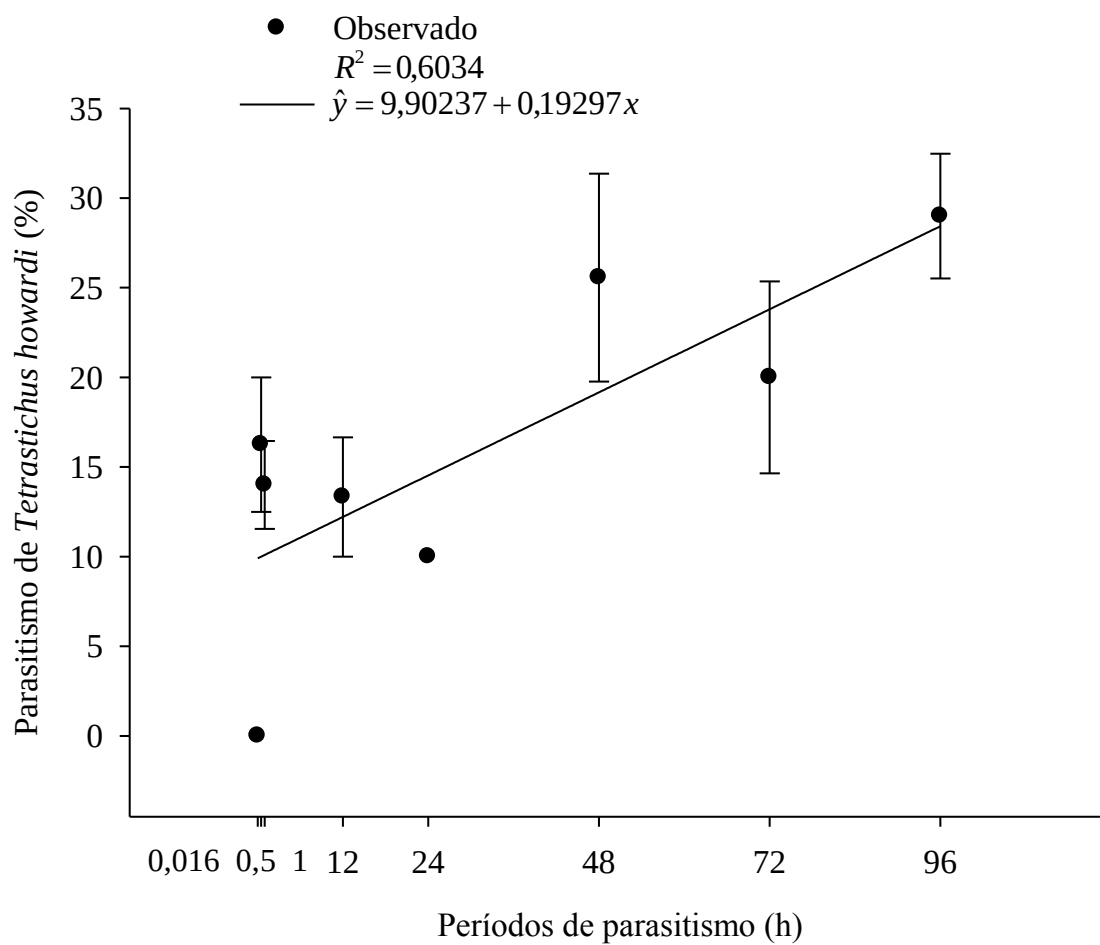


Figura 1. Parasitismo de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) por lagarta de terceiro ínstar de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) nos períodos de parasitismo de 0,016; 0,5; 1; 12; 24; 48; 72 e 96 horas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas mantidas constantes ( $F = 9,1282$ ;  $P = 0,0234$ ).

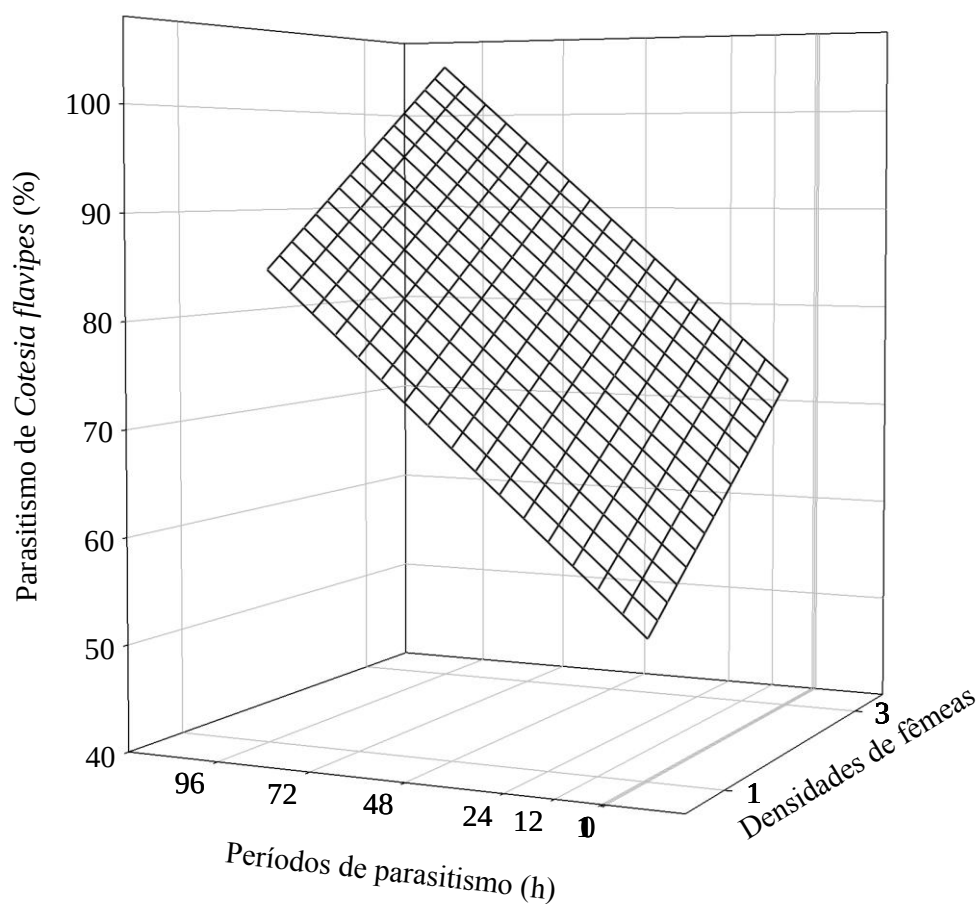


Figura 2. Parasitismo de *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) com uma e três fêmeas por lagarta de terceiro ínstar de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) combinadas com os períodos de parasitismo de 0,016; 0,5; 1; 12; 24; 48; 72 e 96 horas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas mantidas constantes ( $\hat{y} = 42,5902 + 10,125x + 0,332428y$ ) ( $R^2 = 0,6305$ ) ( $F = 11,0916$ ;  $P = 0,0015$ ).



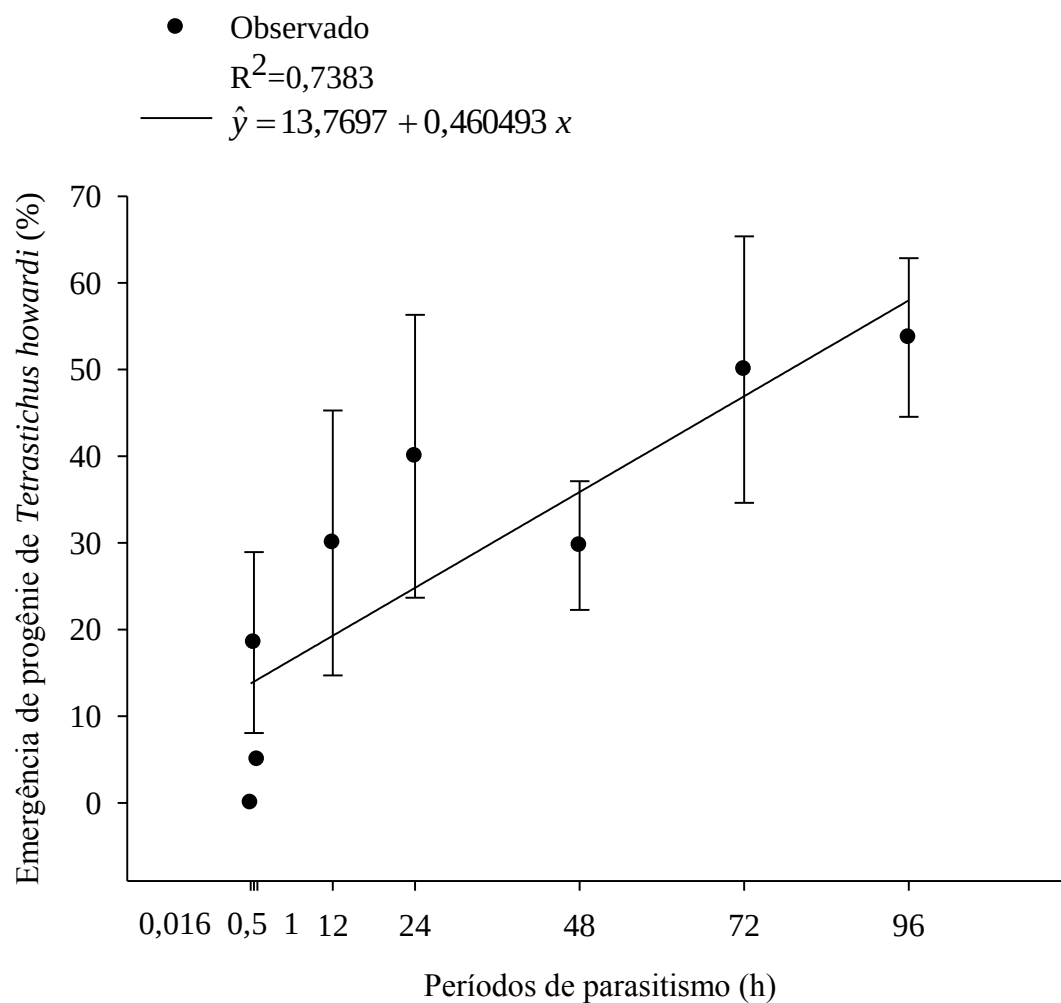


Figura 3. Emergência de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) por lagarta de terceiro ínstar de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) nos períodos de parasitismo de 0,016; 0,5; 1; 12; 24; 48; 72 e 96 horas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas mantidas constantes ( $F= 16,9229$ ;  $P= 0,0063$ ).

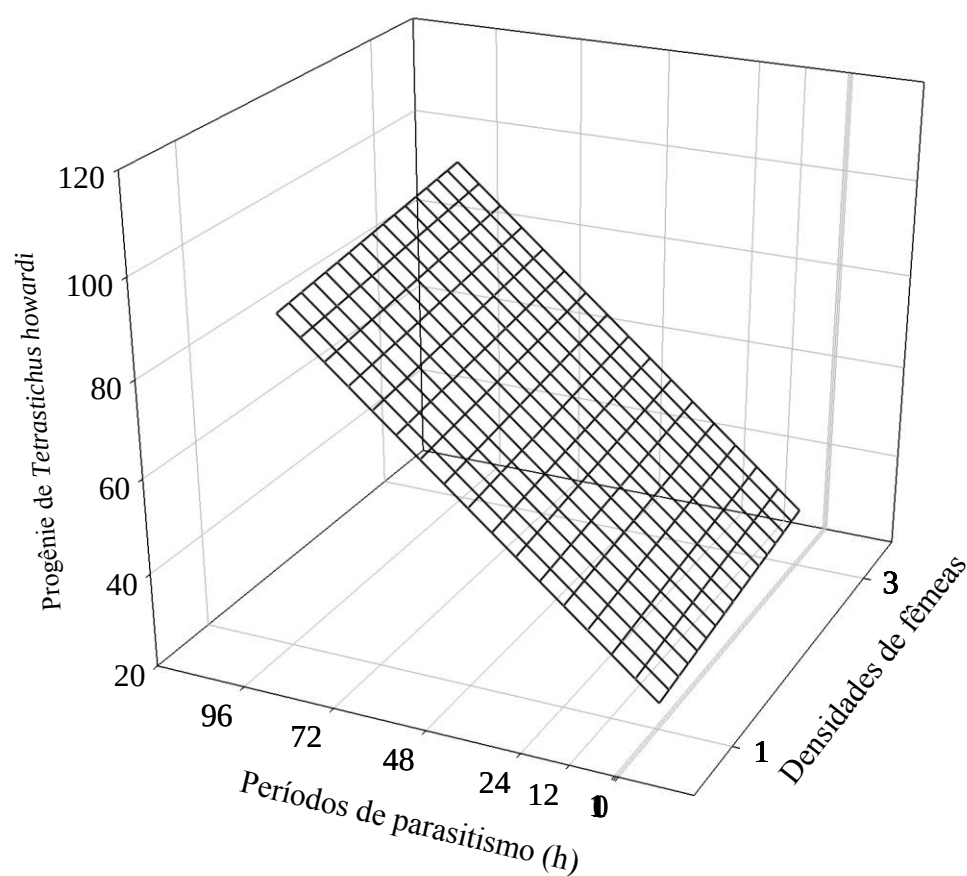


Figura 4. Progênie de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) com uma e três fêmeas por lagarta de terceiro ínstar de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) combinadas com os períodos de parasitismo de 0,016; 0,5; 1; 12; 24; 48; 72 e 96 horas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas mantidas constantes ( $\hat{y} = 22,0641 + 3,5093x + 0,667423y$ ) ( $R^2 = 0,4055$ ) ( $F = 4,4335$ ;  $P = 0,0340$ ).

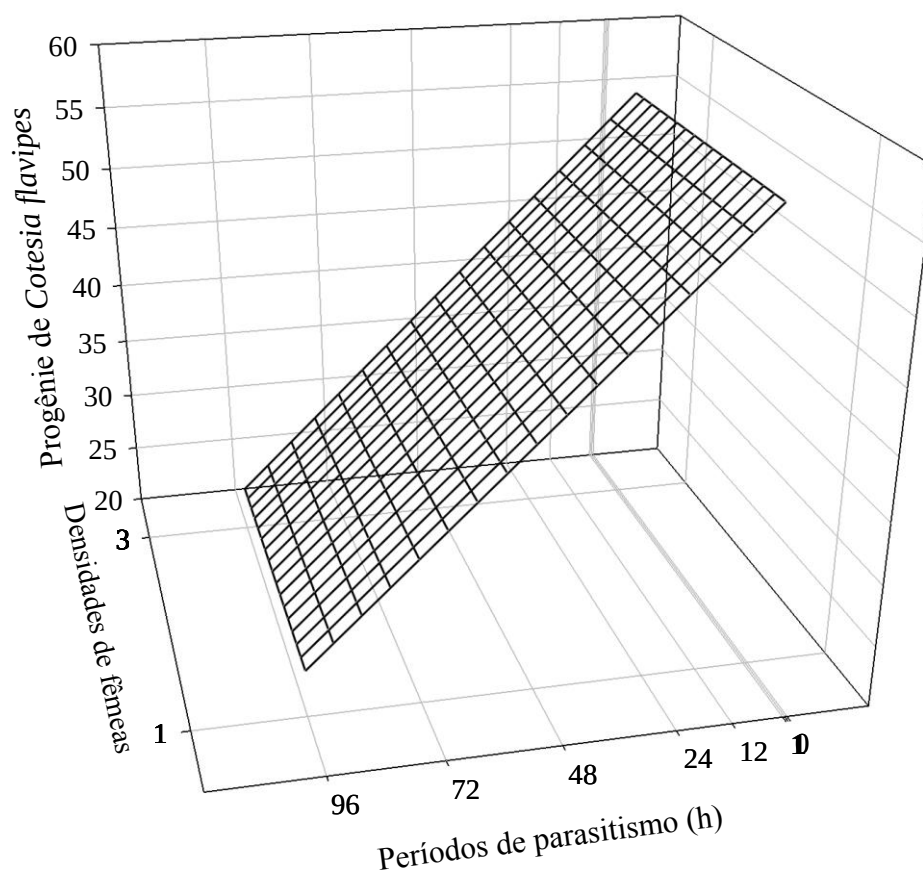


Figura 5. Progênie de *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) com uma e três fêmeas por lagarta de terceiro ínstar de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) combinadas com os períodos de parasitismo de 0,016; 0,5; 1; 12; 24; 48; 72 e 96 horas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas mantidas constantes ( $\hat{y} = 559253 - 0,070625x - 0,333303y$ ) ( $R^2 = 0,6543$ ) ( $F = 12,3021$ ;  $P = 0,0010$ ).

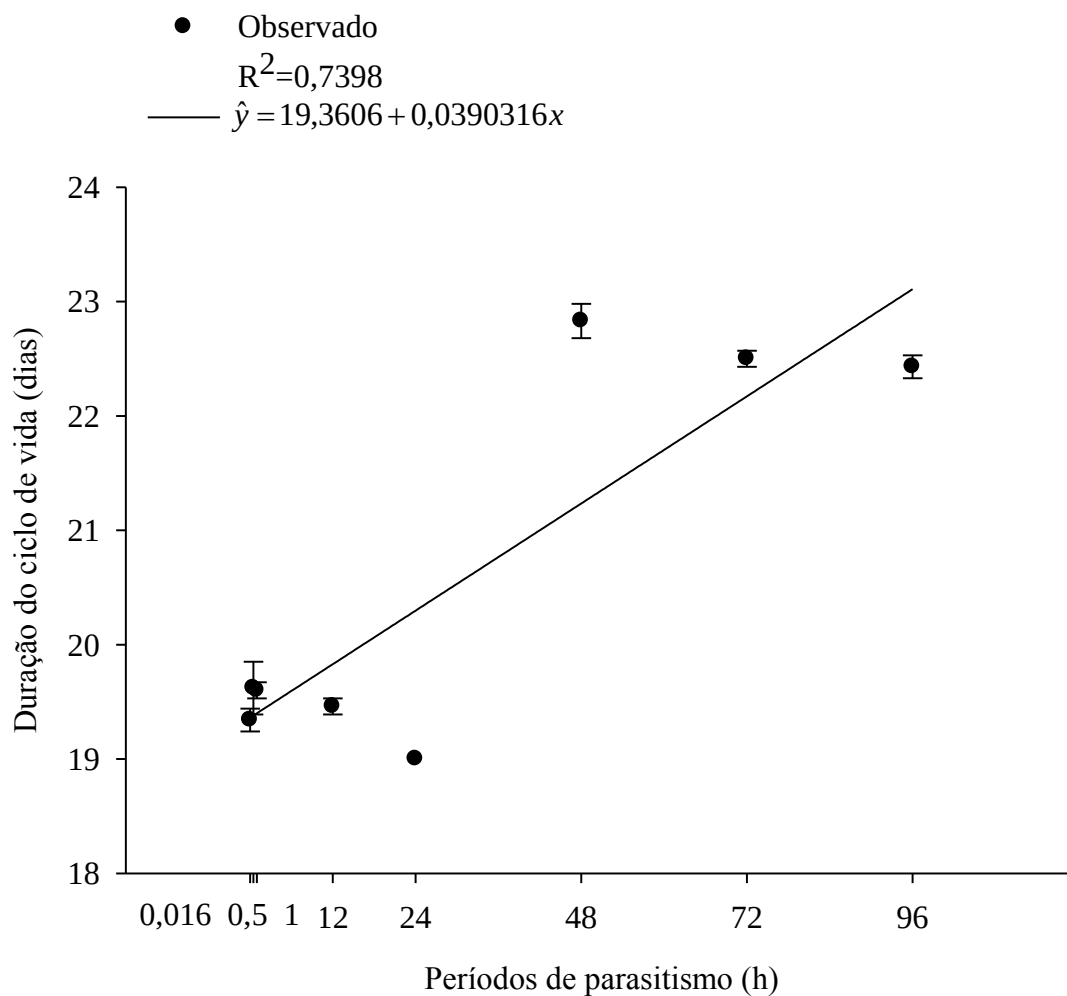


Figura 6. Duração do ciclo de vida (ovo-adulto) de *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) por lagarta de terceiro ínstar de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) nos períodos de parasitismo de 0,016; 0,5; 1; 12; 24; 48; 72 e 96 horas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas mantidas constantes ( $F=17,0606$ ;  $P=0,0061$ ).

Tabela 1. Características biológicas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) com uma e três fêmeas por lagarta de terceiro ínstar de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) combinadas com os períodos de parasitismo de 0,016; 0,5; 1; 12; 24; 48; 72 e 96 horas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 horas.

| Períodos de parasitismo                                                          | Densidades de fêmeas  |                       |
|----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------|
|                                                                                  | <i>T. howardi</i> 1 ♀ | <i>T. howardi</i> 3 ♀ |
| <b>Parasitismo (% <math>\pm</math> erro padrão)<sup>ns</sup></b>                 |                       |                       |
| 0,016h (1min)                                                                    | 2,00 $\pm$ 0,00       | 2,00 $\pm$ 0,00       |
| 0,5h (30 min)                                                                    | 14,00 $\pm$ 5,21      | 12,00 $\pm$ 5,33      |
| 1h                                                                               | 8,00 $\pm$ 3,27       | 8,00 $\pm$ 3,27       |
| 12h                                                                              | 6,00 $\pm$ 3,06       | 2,00 $\pm$ 0,00       |
| 24h                                                                              | 8,00 $\pm$ 3,27       | 6,00 $\pm$ 0,00       |
| 48h                                                                              | 20,00 $\pm$ 9,89      | 20,00 $\pm$ 9,89      |
| 72h                                                                              | 16,00 $\pm$ 4,99      | 14,00 $\pm$ 5,21      |
| 96h                                                                              | 32,00 $\pm$ 6,11      | 26,00 $\pm$ 3,06      |
| <b>Emergência (% <math>\pm</math> erro padrão)<sup>ns</sup></b>                  |                       |                       |
| 0,016h (1min)                                                                    | 0,00 $\pm$ 0,00       | 0,00 $\pm$ 0,00       |
| 0,5h (30 min)                                                                    | 1,00 $\pm$ 10,67      | 15,00 $\pm$ 10,67     |
| 1h                                                                               | 10,00 $\pm$ 0,00      | 0,00 $\pm$ 0,00       |
| 12h                                                                              | 30,00 $\pm$ 15,28     | 10,00 $\pm$ 0,00      |
| 24h                                                                              | 10,00 $\pm$ 0,00      | 10,00 $\pm$ 0,00      |
| 48h                                                                              | 22,00 $\pm$ 13,15     | 22,00 $\pm$ 13,15     |
| 72h                                                                              | 50,00 $\pm$ 14,91     | 30,00 $\pm$ 15,28     |
| 96h                                                                              | 26,67 $\pm$ 11,71     | 70,00 $\pm$ 13,33     |
| <b>Duração do ciclo de vida (dias <math>\pm</math> erro padrão)<sup>ns</sup></b> |                       |                       |
| 0,016h (1min)                                                                    | 0,00 $\pm$ 0,00       | 0,00 $\pm$ 0,00       |
| 0,5h (30 min)                                                                    | 31,50 $\pm$ 4,50      | 29,00 $\pm$ 0,00      |
| 1h                                                                               | 27,00 $\pm$ 0,00      | 0,00 $\pm$ 0,00       |
| 12h                                                                              | 24,33 $\pm$ 5,36      | 17,00 $\pm$ 0,00      |
| 24h                                                                              | 35,00 $\pm$ 0,00      | 19,00 $\pm$ 0,00      |
| 48h                                                                              | 26,17 $\pm$ 1,88      | 27,00 $\pm$ 2,31      |
| 72h                                                                              | 21,67 $\pm$ 0,33      | 21,33 $\pm$ 0,33      |
| 96h                                                                              | 22,88 $\pm$ 0,77      | 21,50 $\pm$ 0,57      |
| <b>Progênie (médias <math>\pm</math> erro padrão)<sup>ns</sup></b>               |                       |                       |
| 0,016h (1min)                                                                    | 0,00 $\pm$ 0,00       | 0,00 $\pm$ 0,00       |
| 0,5h (30 min)                                                                    | 32,00 $\pm$ 17,00     | 17,00 $\pm$ 5,00      |
| 1h                                                                               | 88,00 $\pm$ 0,00      | 0,00 $\pm$ 0,00       |
| 12h                                                                              | 48,33 $\pm$ 11,46     | 99,00 $\pm$ 0,00      |
| 24h                                                                              | 6,00 $\pm$ 0,00       | 62,33 $\pm$ 0,00      |
| 48h                                                                              | 59,83 $\pm$ 19,04     | 59,83 $\pm$ 19,04     |
| 72h                                                                              | 75,00 $\pm$ 6,83      | 112,17 $\pm$ 8,46     |
| 96h                                                                              | 64,63 $\pm$ 9,34      | 112,25 $\pm$ 14,52    |
| <b>Razão sexual (médias <math>\pm</math> erro padrão)<sup>ns</sup></b>           |                       |                       |
| 0,016h (1min)                                                                    | 0,00 $\pm$ 0,00       | 0,00 $\pm$ 0,00       |
| 0,5h (30 min)                                                                    | 0,95 $\pm$ 0,01       | 0,87 $\pm$ 0,04       |
| 1h                                                                               | 0,92 $\pm$ 0,00       | 0,00 $\pm$ 0,00       |
| 12h                                                                              | 0,96 $\pm$ 0,01       | 0,93 $\pm$ 0,00       |
| 24h                                                                              | 1,00 $\pm$ 0,00       | 0,94 $\pm$ 0,00       |
| 48h                                                                              | 0,95 $\pm$ 0,00       | 0,95 $\pm$ 0,03       |
| 72h                                                                              | 0,94 $\pm$ 0,03       | 0,93 $\pm$ 0,01       |
| 96h                                                                              | 0,93 $\pm$ 0,03       | 0,93 $\pm$ 0,01       |

<sup>ns</sup> Não significativo pela análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 2. Características biológicas de *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) com uma e três fêmeas por lagarta de terceiro ínstar de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) combinadas com os períodos de parasitismo de 0,016; 0,5; 1; 12; 24; 48; 72 e 96 horas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 horas.

| Períodos de parasitismo                                         | Densidades de fêmeas  |                       |
|-----------------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------|
|                                                                 | <i>C. flavipes</i> 1♀ | <i>C. flavipes</i> 3♀ |
| Parasitismo (% $\pm$ erro padrão)                               |                       |                       |
| 0,016h (1min)                                                   | 46,00 $\pm$ 6,00      | 56,00 $\pm$ 4,99      |
| 0,5h (30 min)                                                   | 64,00 $\pm$ 7,18      | 80,00 $\pm$ 5,16      |
| 1h                                                              | 48,00 $\pm$ 6,80      | 82,00 $\pm$ 6,29      |
| 12h                                                             | 48,00 $\pm$ 6,11      | 96,00 $\pm$ 2,67      |
| 24h                                                             | 46,00 $\pm$ 12,31     | 75,56 $\pm$ 8,68      |
| 48h                                                             | 92,00 $\pm$ 3,27      | 98,00 $\pm$ 2,00      |
| 72h                                                             | 84,00 $\pm$ 7,18      | 96,00 $\pm$ 2,67      |
| 96h                                                             | 78,00 $\pm$ 4,67      | 96,00 $\pm$ 4,00      |
| Emergência (% $\pm$ erro padrão) <sup>ns</sup>                  |                       |                       |
| 0,016h (1min)                                                   | 84,16 $\pm$ 10,13     | 100,00 $\pm$ 0,00     |
| 0,5h (30 min)                                                   | 92,00 $\pm$ 5,33      | 94,10 $\pm$ 3,99      |
| 1h                                                              | 90,83 $\pm$ 6,86      | 84,50 $\pm$ 3,45      |
| 12h                                                             | 89,96 $\pm$ 7,15      | 92,00 $\pm$ 4,42      |
| 24h                                                             | 68,00 $\pm$ 14,97     | 76,00 $\pm$ 12,93     |
| 48h                                                             | 92,00 $\pm$ 5,33      | 87,50 $\pm$ 3,44      |
| 72h                                                             | 90,00 $\pm$ 6,15      | 89,50 $\pm$ 4,62      |
| 96h                                                             | 89,60 $\pm$ 4,38      | 94,00 $\pm$ 3,06      |
| Duração do ciclo de vida (dias $\pm$ erro padrão) <sup>ns</sup> |                       |                       |
| 0,016h (1min)                                                   | 19,33 $\pm$ 0,15      | 19,37 $\pm$ 0,11      |
| 0,5h (30 min)                                                   | 19,89 $\pm$ 0,85      | 19,68 $\pm$ 0,06      |
| 1h                                                              | 19,43 $\pm$ 0,14      | 19,69 $\pm$ 0,07      |
| 12h                                                             | 19,38 $\pm$ 0,10      | 19,45 $\pm$ 0,10      |
| 24h                                                             | 19,00 $\pm$ 0,00      | 19,00 $\pm$ 0,00      |
| 48h                                                             | 22,63 $\pm$ 0,14      | 23,11 $\pm$ 0,27      |
| 72h                                                             | 22,46 $\pm$ 0,07      | 22,52 $\pm$ 0,13      |
| 96h                                                             | 22,40 $\pm$ 0,09      | 22,42 $\pm$ 0,15      |
| Progênie (médias $\pm$ erro padrão) <sup>ns</sup>               |                       |                       |
| 0,016h (1min)                                                   | 73,48 $\pm$ 4,83      | 83,80 $\pm$ 7,65      |
| 0,5h (30 min)                                                   | 100,27 $\pm$ 6,42     | 104,67 $\pm$ 7,10     |
| 1h                                                              | 88,79 $\pm$ 7,76      | 99,08 $\pm$ 6,92      |
| 12h                                                             | 81,4 $\pm$ 4,31       | 97,39 $\pm$ 8,90      |
| 24h                                                             | 83,42 $\pm$ 10,96     | 83,70 $\pm$ 12,80     |
| 48h                                                             | 50,77 $\pm$ 3,17      | 49,90 $\pm$ 7,35      |
| 72h                                                             | 54,88 $\pm$ 4,96      | 66,78 $\pm$ 6,32      |
| 96h                                                             | 48,50 $\pm$ 4,30      | 64,94 $\pm$ 5,79      |
| Razão sexual (médias $\pm$ erro padrão) <sup>ns</sup>           |                       |                       |
| 0,016h (1min)                                                   | 0,48 $\pm$ 0,11       | 0,57 $\pm$ 0,05       |
| 0,5h (30 min)                                                   | 0,77 $\pm$ 0,08       | 0,59 $\pm$ 0,04       |
| 1h                                                              | 0,64 $\pm$ 0,04       | 0,52 $\pm$ 0,03       |
| 12h                                                             | 0,62 $\pm$ 0,06       | 0,55 $\pm$ 0,05       |
| 24h                                                             | 0,58 $\pm$ 0,12       | 0,60 $\pm$ 0,03       |
| 48h                                                             | 0,58 $\pm$ 0,03       | 0,42 $\pm$ 0,03       |
| 72h                                                             | 0,56 $\pm$ 0,03       | 0,44 $\pm$ 0,02       |
| 96h                                                             | 0,52 $\pm$ 0,03       | 0,41 $\pm$ 0,03       |

<sup>ns</sup>Não significativo pela análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de probabilidade.

## Capítulo II

### **Desenvolvimento de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) expostas a diferentes densidades e períodos de parasitismo**

**Desenvolvimento de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) expostas a diferentes densidades e períodos de parasitismo**

**RESUMO:** A densidade de fêmeas por hospedeiro e o tempo de parasitismo pode afetar o parasitismo, emergência, progênie, razão sexual, duração do ciclo e a longevidade dos descendentes de parasitoides. O objetivo, desse trabalho, foi determinar a combinação mais apropriada de fêmeas de *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) e o período de parasitismo em pupas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) visando a multiplicação massal desse parasitoide. Pupas de *D. saccharalis* com 24 horas de idade e biomassa entre 0,120 e 0,150 g foram individualizadas em tubos de vidro (1,5 x 10 cm) e expostas a diferentes densidades (uma, três e sete) de fêmeas de *T. howardi* e períodos de parasitismo (24, 48 e 72 horas) em câmara climatizada (BOD) a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de UR e fotofase de 14 horas até a emergência dos adultos parasitoides. O parasitoide *T. howardi* parasitou e se desenvolveu em todas as combinações de densidades de fêmeas e períodos de parasitismo. A duração do ciclo de vida (ovo-adulto) foi semelhante para os tratamentos com média de  $16,23 \pm 0,05$  dias. O número de descendentes foi proporcional ao aumento da densidade de fêmeas parasitoides com valores de  $84,88 \pm 1,97$  (1 parasitoide:1 hospedeiro) e  $254,78 \pm 4,60$  (7 parasitoides:1 hospedeiro) indivíduos. A combinação mais apropriada para a multiplicação de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis* foi de sete fêmeas parasitoides e 24 horas de parasitismo.

Palavras-chave: multiplicação de parasitoides, períodos de parasitismo, densidade do parasitoide



**ABSTRACT:** The density of females per host and the period of parasitism may affect parasitism, emergence, progeny, sex ratio, cycle duration and longevity of the descendants of parasitoids. The objective of this work was to determine the combination of female more appropriate *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) and the period of parasitism in pupae of *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) aiming to mass multiplication this parasitoid. Pupae of *D. saccharalis* with 24 hours of age and biomass between 0.120 and 0.150 g were individually placed in glass tubes (1.5 x 10 cm) and exposed to different densities (one, three and seven) of females of *T. howardi* and periods of parasitism (24, 48 and 72 hours) in climatic chamber (BOD) at  $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 10\%$  RH and photophase of 14 hours until the emergence of adult parasitoids. The parasitoid *T. howardi* parasitized and developed in all combinations of densities of females and periods of parasitism. The duration of the life cycle (egg-adult) was similar for all treatments with mean of  $16.23 \pm 0.05$  days. The number of descendants was proportional to the increased density parasitoid females with values of  $84.88 \pm 1.97$  (1 parasitoid: 1 host) and  $254.78 \pm 4.60$  (7 parasitoids: 1 host) individuals. The combination most appropriate for the multiplication of *T. howardi* in pupae the *D. saccharalis* was seven parasitoid and 24 hours of parasitism.

Keywords: multiplication of parasitoids, periods of parasitism, parasitoid of density

## INTRODUÇÃO

Parasitoides são reguladores populacionais de insetos e se destacam como o principal grupo de inimigos naturais em sistemas agrícolas (PANIZZI e PARRA, 2009). A maioria dos parasitoides pertence às ordens Hymenoptera e Diptera (QUICKE, 1997; GODFRAY, 1994) e podem ser endoparasitoides ou ectoparasitoides, idiobiontes ou cenobiontes, solitários ou gregários, primários ou hiperparasitoides, especialistas ou generalistas (HARVEY et al., 2013). Na ordem Hymenoptera, as principais famílias de parasitoides utilizadas para o controle biológico de insetos são: Aphelinidae (FERNANDES et al., 2000), Braconidae (VACARI et al., 2012), Encyrtidae (RODRÍGUEZ et al., 2010; MARCHIORI et al., 2004), Ichneumonidae (FERNANDES et al., 2010), Pteromalidae (MONTILLA et al., 2007), Scelionidae (CARNEIRO et al., 2009), Trichogrammatidae (PRATISSOLI et al., 2005; PERVEEN e SULTAN, 2012) e Eulophidae (PEREIRA et al., 2010b; FAVERO et al., 2013). Espécies de Eulophidae têm sido estudadas visando sua utilização em programas de controle biológico, sobretudo para o controle de insetos pragas em cana-de-açúcar (PEREIRA et al., 2010a; CHICHERA et al., 2012; FAVERO et al., 2013; RODRIGUES et al., 2013; VARGAS et al., 2013).

*Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide gregário e apresenta potencial para ser utilizado como alternativa de controle de lepidópteros-praga (BAITHA et al., 2004; LA SALLE e POLASZEK, 2007; PRASAD et al., 2007). A espécie *T. howardi* foi registrada como parasitoide das famílias Crambidae (CRUZ et al., 2011), Noctuidae, Pyralidae (KFIR et al., 1993; LA SALLE e POLASZEK, 2007) e Plutellidae (SILVA-TORRES et al., 2010b). Recentemente, Vargas et al. (2011) registraram a capacidade desse inimigo natural em parasitar e se desenvolver em larvas e pupas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae).

*Diatraea saccharalis* é um inseto considerado de grande importância e, dependendo do tamanho da sua população, pode causar prejuízos expressivos nas culturas da cana-de-açúcar (DINARDO-MIRANDA et al., 2011; 2012), arroz (LV et al., 2011), milho e sorgo. Inseticidas químicos são pouco eficientes para o controle de *D. saccharalis*, cujas lagartas de primeiro instar, alimentam-se das folhas do cartucho e, posteriormente, migram para o interior dos colmos das plantas (CRUZ et al., 2011).

Isso aumenta a importância de parasitoides para o controle biológico dessa praga (RODRIGUES et al., 2013).

O desenvolvimento de parasitoides é restrito aos recursos nutricionais do hospedeiro e em parasitoides com hábito gregário existe competição dos imaturos por estes recursos (HARVEY et al., 2013). Dessa forma, a densidade de parasitoides e o período de exposição ao hospedeiro podem afetar a capacidade de parasitismo (SAGARRA et al., 2000; SILVA-TORRES et al., 2010a,b), a produção de progênie (FOERSTER et al., 2001; CHONG e OETTING, 2006), a razão sexual da progênie (CHOI et al., 2001), a duração do ciclo de vida (ovo-adulto) (SILVA-TORRES e MATTHEWS, 2003; BARBOSA et al., 2008; 2010) e a longevidade de adultos (SILVA-TORRES e MATTHEWS, 2003). Assim, o conhecimento da adequação da densidade de parasitoides e período de parasitismo por hospedeiro é importante para assegurar o número e qualidade de indivíduos produzidos.

Visando fornecer subsídios para multiplicação de *T. howardi*, de maneira que não comprometa a qualidade biológica dos seus descendentes, o objetivo desse trabalho foi determinar a combinação mais apropriada de densidade de fêmeas desse parasitoide e período de parasitismo em pupas de *D. saccharalis*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Entomologia/Controle Biológico (LECOBIOL) da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) em Mato Grosso do Sul, Brasil.

### **Multiplicação do hospedeiro e dos parasitoides.**

*D. saccharalis*: Ovos viáveis foram acondicionados em frascos de vidro (8,5 x 13 cm) contendo dieta artificial a base de farelo de soja, germe de trigo, vitaminas, sais minerais e anticontaminantes para alimentação das lagartas recém eclodidas, onde permaneceram até o terceiro ínstar (ANEXO 1). Essas lagartas foram transferidas para placas de Petri (6,5 x 2,5 cm) contendo uma porção de dieta de realimentação (3 x 1,5 cm) até a formação das pupas (ANEXO 2). As pupas foram recolhidas, sexadas e colocadas 50 (20 machos e 30 fêmeas) por gaiola de PVC (10 x 22 cm) revestidas internamente com folha de papel sulfite como substrato para oviposição. Estes tubos

foram fechados com folha de papel sulfite e elástico adaptando procedimentos descritos por Parra (2007) (ANEXO 3).

*T. howardi*: Adultos do parasitoide foram mantidos em tubos de vidro (2 x 15 cm) vedados com algodão e contendo uma gotícula de mel para alimentação. Pupas de *D. saccharalis*, com 24 a 48 horas de idade, foram expostas ao parasitismo de fêmeas de *T. howardi* durante 24 horas e, após esse período, individualizadas e mantidas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa (UR) de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas em câmara climatizada até a emergência dos adultos (VARGAS et al., 2011) (ANEXO 3).

### **Desenvolvimento experimental.**

Pupas de *D. saccharalis* com 24 horas de idade e biomassa entre 0,120 e 0,150 g foram individualizadas e expostas a diferentes densidades de fêmeas de *T. howardi* (uma, três e sete) e períodos de parasitismo (24, 48 e 72 horas). Cada tratamento foi acondicionado em tubos de vidro (1,5 x 10 cm) contendo uma gotícula de mel para alimentação dos parasitoides e vedados com algodão. As pupas de *D. saccharalis* permaneceram em câmara climatizada (BOD) a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa (UR) e fotofase de 14 horas até a emergência dos adultos parasitoides.

As características biológicas avaliadas foram o parasitismo [(número de pupas de *D. saccharalis* com emergência de parasitoides + pupas sem emergência de adultos de *D. saccharalis*)/(número total de pupas)  $\times 100$ ]; a emergência [(número de pupas de *D. saccharalis* com emergência de adultos dos parasitoides)/(número de pupas parasitadas)  $\times 100$ ]; a duração do ciclo de vida (ovo-adulto); o número de parasitoides emergidos por pupa (progênie) e a razão sexual (número de fêmeas/número de adultos). A mortalidade natural do hospedeiro foi observada nas condições do experimento, com 40 pupas de *D. saccharalis* individualizadas em tubos de vidro (1,5 x 10 cm) e vedados com algodão, sem a presença de parasitoides sendo determinado o número de adultos de *D. saccharalis* emergidos. O sexo dos indivíduos parasitoides foi determinado de acordo com dimorfismo das antenas de *T. howardi* (LA SALLE e POLASZEK, 2007).

### **Análise estatística.**

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado no esquema fatorial 3 x 3 (três densidades de fêmeas e três períodos de parasitismo), com nove tratamentos e cinco repetições, sendo cada repetição representada por um grupo de oito pupas de *D. saccharalis* individualizadas, totalizando 40 pupas por tratamento. Os

dados das características biológicas foram submetidos à análise de variância (ANOVA), a 5% de probabilidade e, quando significativos a análise de regressão. A equação que melhor se ajustou aos dados foi escolhida a partir do modelo que apresentou todos os parâmetros significativos, com base no coeficiente de determinação ( $R^2$ ), na significância dos coeficientes de regressão ( $\beta_i$ ) e de regressão pelo teste F (até 5% de probabilidade), e no fenômeno biológico estudado.

## RESULTADOS

O parasitismo e emergência de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis* foi de 100% em todas as combinações de densidade de fêmeas (uma, três e sete) e período de parasitismo (24, 48 e 72 horas) (Tabela 1).

A duração do ciclo de vida (ovo-adulto) de *T. howardi* não foi influenciada pela densidade de fêmeas e período de parasitismo, apresentando média geral de  $16,23 \pm 0,05$  dias ( $P > 0,05$ ) (Tabela 1). A razão sexual de *T. howardi* foi semelhante nas diferentes densidades de fêmeas e períodos de parasitismo no hospedeiro *D. saccharalis* com média geral de  $0,92 \pm 0,01$  ( $P > 0,05$ ) (Tabela 1).

O número de descendentes de *T. howardi* não foi influenciado pelo período de parasitismo ( $F = 1,755$ ;  $P = 0,1744$ ), mas houve efeito em função da densidade de fêmeas ( $F = 499,9175$ ;  $P = 0,0001$ ), apresentando menor progênie na densidade 1:1 ( $84,88 \pm 1,97$ ) e maior na densidade 7:1 ( $254,78 \pm 4,60$ ) indivíduos (Figura 1) (Tabela 2).

O número de fêmeas produzidas por fêmea de *T. howardi* foi semelhante quando analisado o período de parasitismo ( $F = 1,031$ ;  $P = 0,3577$ ), porém significativa para densidade de fêmeas ( $F = 418,9665$ ;  $P = 0,0001$ ), sendo a quantidade de fêmeas produzidas inversamente proporcional ao aumento da densidade de fêmeas, com  $80,62 \pm 2,28$  fêmeas na densidade 1:1 e  $30,72 \pm 0,70$  fêmeas na densidade 7:1 (Figura 2) (Tabela 2).

## DISCUSSÃO

A maior progênie, o maior número total de descendentes fêmeas produzidas por fêmeas e a razão sexual de *T. howardi* emergidos de pupas de *D. saccharalis* indicam que esse inimigo natural deve ser multiplicado com a combinação de sete

fêmeas desse parasitoide por hospedeiro e 24 horas de parasitismo. Por outro, lado os índices de parasitismo e emergência (100%) demonstram que *T. howardi* pode se adaptar às variações de densidades de fêmeas e períodos de parasitismo, fato que permite maior plasticidade na utilização, desse inimigo natural, em sistemas de multiplicação massal. Resultados semelhantes foram observados com a exposição de uma ou várias fêmeas de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) por pupa de *D. saccharalis*, *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Erebididae), *Heliothis virescens* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), ou seja, as diferentes densidades desse parasitoide, não influenciaram a porcentagem de parasitismo e emergência (PARON; BERTI-FILHO, 2000). Por outro lado, o parasitismo e a emergência de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) criados em pupas de *Bombyx mori* Linnaeus (Lepidoptera: Bombycidae) foram afetados pela densidade de fêmeas parasitoides com melhor desempenho da densidade de 45 fêmeas por pupa desse hospedeiro (PEREIRA et al., 2010b). Em outro trabalho com *T. diatraeae* em pupas de *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae), a densidade de 21 fêmeas parasitoides foi considerada o número apropriado por hospedeiro com 100% de parasitismo e emergência (FAVERO et al., 2013). Influências negativas no parasitismo e emergência do parasitoide *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae) utilizando o hospedeiro *Cochliomyia macellaria* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) sob diferentes densidades de fêmeas parasitoides e períodos de exposição ao hospedeiro também foram observados (BARBOSA et al., 2008; 2010).

A progênie de *T. howardi* foi afetada pelo número de fêmeas por pupa de *D. saccharalis*. A produção de descendentes foi proporcional ao aumento da densidade de fêmeas parasitoides. O desenvolvimento do parasitoide bem como, o número de indivíduos produzidos está intimamente associado ao tamanho e qualidade do hospedeiro (PASTORI et al., 2012), a densidade de parasitoides e ao período de exposição do hospedeiro (BARBOSA et al., 2008; 2010). A proporção de fêmeas parasitoides por hospedeiro pode afetar a fecundidade e a eficiência dos sistemas de multiplicação massal, principalmente devido ao aumento da concorrência dos imaturos no hospedeiro (SAGARRA et al., 2000). Isto foi confirmado com *P. elaeisis* criados em pupas de *B. mori* (PEREIRA et al., 2010b) e *T. diatraeae* em pupas de *T. molitor* (FAVERO et al., 2013). Além disso, quantidades inadequadas de fêmeas parasitoides

podem reduzir ou aumentar o número de ovos por hospedeiro e a quantidade de toxinas injetadas nas pupas pelas fêmeas parasitoides. As toxinas são necessárias para reduzir a resposta imunológica do hospedeiro, um mecanismo de defesa utilizado para encapsular ovos ou larvas do parasitoide (PENNACCHIO e STRAND, 2006). Assim, os ovos de parasitoides podem ser encapsulados e mortos pelos hemócitos das pupas quando a densidade de fêmeas do parasitoide por hospedeiro é baixa para suprimir a resposta imune. No entanto, doses elevadas de toxinas injetadas por muitas fêmeas por pupa podem matar o hospedeiro antes que ocorra o desenvolvimento completo do imaturo (STRAND, 2008; ANDRADE et al., 2010).

O número de fêmeas produzidas por fêmea de *T. howardi* por pupa de *D. saccharalis* foi inversamente proporcional ao aumento da densidade de fêmeas. Dependendo da espécie parasitoide, o superparasitismo decresce o número de fêmeas da progênie (SOARES et al., 2009) e o que pode explicar a diminuição do número de descendentes do parasitoide nas maiores densidades de fêmeas é que o hospedeiro possui determinada capacidade de suporte acima do qual o alimento se torna um fator limitante para desenvolvimento do parasitoide (PEREIRA et al., 2010b). Por outro lado, o superparasitismo pode aumentar a sobrevivência da progênie por sobrecarregar a resposta imune celular do hospedeiro (ANDRADE et al., 2012).

A duração do ciclo de vida (ovo-adulto) de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis* não foi influenciada pela combinação de densidade de fêmeas e período de parasitismo. O que pode ser consequência de uma melhor adaptação do parasitoide ao hospedeiro e da condição do hospedeiro oferecido em termos de quantidade e qualidade de nutrientes disponíveis. A menor duração do ciclo de vida de parasitoides em hospedeiros pode ser causada pela concorrência entre imaturos, pelo combate físico ou pela supressão fisiológica, que pode reduzir o tempo de desenvolvimento (ovo-adulto) do parasitoide (BRODEUR e BOIVIN, 2004).

A razão sexual de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis* foi superior à 0,84 para todas as densidades de fêmeas e períodos de parasitismo testados e se assemelha à obtida em outros dois eulophídeos: *P. elaeisis* em pupas do hospedeiro alternativo *B. mori* (PEREIRA et al., 2010b) e *T. diatraeae* em pupas de *T. molitor* (FAVERO et al., 2013). Isto é importante para sistemas de multiplicação massal, experimentos de laboratório e seleção de indivíduos para liberação no campo, pois as fêmeas parasitoides são responsáveis pela geração subsequente (AMALIN et al., 2005). Algumas espécies de parasitoides são capazes de ajustar o número e o sexo dos descendentes em função da

quantidade de fêmeas progenitoras, disponibilidade de hospedeiro (GODFRAY, 1994; BURTON-CHELLEW et al., 2008) e de acordo com o tamanho ou qualidade do recurso hospedeiro (AMALIN et al., 2005; SOARES et al., 2009; PASTORI et al., 2012). Isso permite supor que para obtenção de maior quantidade de fêmeas parasitoides em relação a machos, a escolha do hospedeiro deve ser levada em consideração na multiplicação de inimigos naturais.

A utilização de parasitoides em programas de controle biológico depende do seu desenvolvimento e reprodução em hospedeiros preferenciais ou alternativos, que devem apresentar adequada condição nutricional e baixo custo de produção (FAVERO et al., 2013). O número de fêmeas e o período de parasitismo de *T. howardi* por pupa de *D. saccharalis* são fatores importantes verificados no controle de qualidade das criações em laboratório, pois interferem em aspectos biológicos do parasitoide e quanto maiores forem os índices de parasitismo e o número de fêmeas de boa qualidade produzidas, maior será a possibilidade de expandir a utilização de *T. howardi* no controle de insetos considerados pragas.

Os resultados aqui apresentados revelam a capacidade de *T. howardi* se desenvolver em uma ampla faixa de densidade de fêmeas e períodos de parasitismo em pupas de *D. saccharalis*. Parasitar e se desenvolver no hospedeiro em diversas combinações de densidades de fêmeas parasitoides e períodos de parasitismo pode favorecer a sobrevivência desse inimigo natural em condições de laboratório e campo, pois as fêmeas parasitoides ampliam as chances de reprodução e podem diminuir os efeitos deletérios devido à perda de variabilidade genética. Estas informações podem ser úteis para diversas finalidades, seja para aprimorar produções em larga escala em laboratório, estudos científicos e também possíveis liberações de *T. howardi* em campo para o controle de insetos, especialmente *D. saccharalis*.

## CONCLUSÃO

A combinação de sete fêmeas de *T. howardi* com 24 horas de parasitismo em pupas de *D. saccharalis* é a mais apropriada para multiplicação desse parasitoide por proporcionar a maior progênie, o maior número total de descendentes fêmeas produzidas por fêmea parasitoide e elevada razão sexual.



## REFERÊNCIAS

- AMALIN, D. M.; PEÑA, J. E.; DUNCAN, R. E. Effects of host age, female parasitoid age, and host plant on parasitism of *Ceratogramma etiennei* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Florida Entomologist**, v. 88, p. 77-82, 2005.
- ANDRADE, G. S.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C.; ZANUNCIO, T. V.; LEITE, G. L. D.; POLANCZYK, R. A. Immunity of an alternative host can be overcome by higher densities of its parasitoids *Palmistichus elaeisis* and *Trichospilus diatraeae*. **PLoS ONE**, v. 5, e13231, 2010.
- BAITHA, A.; JALALI S. K.; RABINDRA, R. J.; VENKATESAN, T.; RAO, N. S. Parasitizing efficiency of the pupal parasitoid, *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) on *Chilo partellus* (Swinhoe) at different exposure periods. **Journal of Biological Control**, v. 18, p. 65-68, 2004.
- BARBOSA, L. S.; COURI, M. S.; COELHO, V. M. A. Desenvolvimento de *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas de *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775) (Diptera: Calliphoridae), utilizando diferentes densidades do parasitoide. **Biota Neotropica**, v. 8, p. 49-54, 2008.
- BARBOSA, L. S.; COURI, M. S.; COELHO, V. M. A. Desempenho do parasitoide *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae) utilizando como hospedeiro *Cochliomyia macellaria* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae), sob diferentes tempos de exposição. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 54, p. 125-129, 2010.
- BRODEUR, J.; BOIVIN, G. Functional ecology of immature parasitoids. **Annual Review of Entomology**, v. 49, p. 27-49, 2004.
- BURTON-CHELLEW, M. N.; KOEVOETS, T.; GRILLENBERGER, B. K.; SYKES, E. M.; UNDERWOOD, S. L.; BIJLSMA, K.; GADAU, J.; ZANDE, L. van de.; BEUKEBOOM, L.W.; WEST, S. A.; SHUKER, D. M. Facultative sex ratio adjustment in natural populations of wasps: cues of local mate competition and precision of adaptation. **American Naturalist**, v. 172, p. 393-404, 2008.
- CARNEIRO, T. R.; FERNANDES, O. A.; CRUZ, I. Influência da competição intra específica entre fêmeas e da ausência de hospedeiro no parasitismo de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) sobre ovos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 53, p. 482-486, 2009.
- CHICHERA, R. A.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; BARBOSA, R. H.; PASTORI, P. L.; ROSSONI, C. Capacidade de busca e reprodução de *Trichospilus diatraeae* e *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Interciencia**, v. 37, p. 852-856, 2012.
- CHOI, W. I.; YOON, T. J.; RYOO, M. I. Host-sizedependent feeding behaviour and progeny sex ratio of *Anisopteromalus calandrae* (Hym.: Pteromalidae). **Journal Applied Entomology**, v. 125, p. 71-77, 2001.

CHONG, J. H.; OETTING, R. D. Functional response and progeny production of the Madeira mealybug parasitoid, *Anagyrus* sp. nov. nr. *sinope*: The effects of host and parasitoid densities. **Biological Control**, v. 39, p. 320-328, 2006.

CRUZ, I.; REDOAN, A. C.; SILVA, R. B.; FIGUEIREDO, M. L.C.; PENTEADO-DIAS, A. M. New record of *Tetrastichus howardi* (Olliff) as a parasitoid of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) on maize. **Scientia Agricola**, v. 68, p. 252-254, 2011.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; FRACASSO, J. V.; PERECIN, D. Variabilidade espacial de populações de *Diatraea saccharalis* em canaviais e sugestão de método de amostragem. **Bragantia**, v.70, p.577-585, 2011.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; ANJOS, I. A.; COSTA, V. P.; FRACASSO, J. V. Resistance of sugarcane cultivars to *Diatraea saccharalis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, p. 1-7, 2012.

FAVERO, K.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; OLIVEIRA, H. N. de.; COSTA, D. P.; ZANUNCIO, J. C. Biological characteristics of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) are influenced by the number of females exposed per pupa of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Florida Entomologist** , v. 96, p. 583-589, 2013.

FERNANDES, A. M. V.; FARIAS, A. M. I.; FARIAS, C. A. de.; TAVARES, M. T. Ocorrência de *Aphelinus gossypii* Timberlake (Hymenoptera: Aphelinidae) parasitando *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) em algodão no Estado de Pernambuco. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, p. 831-834, 2000.

FERNANDES, L. B. dos.; DIAS FILHO, M. M.; FERNANDES, M. A.; PENTEADO-DIAS, A. M. Ichneumonidae (Hymenoptera) parasitoids of Lepidoptera caterpillars feeding on *Croton floribundus* Spreng (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 54, p. 263-269, 2010.

FOERSTER, L. A.; DOETZER, A. K.; AVANCI, M. R. F. Parasitoides larvais de *Mythimna (Pseudaletia) sequax* Franclemont e capacidade de parasitismo de *Glyptapanteles muesebecki* (Blanchard) em relação ao tempo de exposição, temperatura e densidade de hospedeiros. **Acta Biologica Paranaense**, v. 30, p. 139-149. 2001.

GODFRAY, H. C. J. **Parasitoids, behavioral and evolutionary ecology**. Princeton: Princeton University Press, 1994, 488 p.

HARVEY, J. A.; POELMAN, E. H.; TANAKA, T. Intrinsic inter and intraspecific competition in parasitoid wasps. **Annual Review of Entomology**, v. 58, p. 333-51, 2013.

KFIR, R.; GOUWS, J.; MOORE, S.D. Biology of *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae): a facultative hyperparasitoid of stem borers. **Biocontrol Science and Technology**, v. 3, p. 149-159, 1993.

LA SALLE, J.; POLASZEK, A. Afrotropical species of the *Tetrastichus howardi* species group (Hymenoptera: Eulophidae). **African Entomology**, v. 15, p. 45-56, 2007.

LV, J.; WILSON, L. T.; BEUZELIN, J. M.; WHITE, W. H.; REAGAN, T. E.; WAY, M. O. Impact of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) as an augmentative biocontrol agent for the sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) on rice. **Biological Control**, v. 56, p. 159-169, 2011.

MARCHIORI, C. H.; SILVA FILHO, O. M.; PEREIRA, L. A. RIBEIRO, L. C. S.; BORGES, V. R. *Hemencyrtus herbertii* Ashmead (Hymenoptera: Encyrtidae) como parasitoides de dípteros muscóides coletados em Itumbiara, Goiás. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, p. 691-693, 2004.

MONTILLA, R.; GARCÍA, J. L.; LACRUZ, L.; DURÁN, D. *Spalangia drosophilae* ashmead (Hymenoptera: Pteromalidae) parasitoide de pupas de la mosca de la piña *Melanoloma viatrix* hendel (Diptera: Richardiidae) en Trujillo, Venezuela. **Agronomía Tropical**, v. 57, p. 107-112. 2007.

PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. **Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 1164 p.

PARRA, J. R. P. **Técnicas de criação de insetos para programa de controle biológico**. 6 ed. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 2007. 134 p.

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

PASTORI, P. L.; PEREIRA, F. F.; ANDRADE, G. S.; SILVA, R. O.; ZANUNCIO, J. C.; PEREIRA, A. I. A. Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) in pupae of two lepidopterans defoliators of eucalypt. **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 38, p. 91-93, 2012.

PENNACCHIO, F.; STRAND, M. R. Evolution of developmental strategies in parasitic Hymenoptera. **Annual Review Entomology**, v. 51, p. 233-58, 2006.

PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; PASTORI, P. L.; PEDROSA, A. R.; OLIVEIRA, H. N. Parasitismo de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) em hospedeiro alternativo sobre plantas de eucalipto em semi-campo. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, p.715-720, 2010a.

PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, T. V.; PRATISSOLI, D.; PASTORI, P. L. The density of females of the *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). **Anais da Acadadêmia Brasileira de Ciências**, v. 81, p. 323-331, 2010b.

PERVEEN, F.; SULTAN, R. Effects of the host and parasitoid densities on the quality production of *Trichogramma chilonis* on lepidopterous (*Sitotroga cerealella* and *Corcyra cephalonica*) eggs. **Arthropods**, v. 1, p. 63-72, 2012.

PRASAD, K. S.; ARUNA, A. S.; KUMAR, V.; KARIAPPA, B. K. Feasibility of mass production of *Tetrastichus howardi* (Olliff), a parasitoid of leaf roller (*Diaphania pulverulentalis*), on *Musca domestica* (L.). **Indian Journal of Sericulture**, v. 46, p. 89-91, 2007.

PRATISSOLI, D.; ZANUNCIO, J. C.; VIANNA, U. R.; ANDRADE, J. S.; MOREIRA, T. B.; ANDRADE, G. S. Biological characteristics of *Trichogramma pretiosum* and *Trichogramma acacioi* (Hym.: Trichogrammatidae), parasitoids of the avocado defoliator *Nipteria panacea* (Lep.: Geometridae), on eggs of *Anagasta kuehniella* (Lep.: Pyralidae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, p. 7-13, 2005.

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

RODRÍGUEZ, J. M.; RODRÍGUEZ-VELEZ, B.; ZARAGOZA-CABALLERO, S.; NOGUERA-MARTÍNEZ, A.; GONZÁLEZ-SORIANO, E.; RAMÍREZ-GARCÍA, E. Diversity of Encyrtidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) collected with Malaise traps in the tropical dry forest of San Javier, Sonora, Mexico. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, v. 81, p. 813-822, 2010.

RODRIGUES, M. A. T.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; PASTORI, P. L.; GLAESER, D. F.; OLIVEIRA, H. N. de.; ZANUNCIO, J. C. Thermal Requirements and Generation Estimates of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) in Sugarcane Producing Regions of Brazil. **Florida Entomologist**, v. 96, p. 154-159, 2013.

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

SILVA-TORRES, C. S. A. da.; MATTHEWS, R. W. Development of *Melittobia australica* Girault and *M. digitata* Dahms (Parker) (Hymenoptera: Eulophidae) parasiting *Neobellieria bullata* (Parker) (Diptera: Sarcophagidae) puparia. **Neotropical Entomology**, v. 32, p. 645-651, 2003.

SILVA-TORRES, C. S. A. da.; TORRES, J. B.; BARROS, R.; PALLINI, A. Parasitismo de traça-das-crucíferas por *Oomyzus sokolowskii*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 7, p. 638-645, 2010a.

SILVA-TORRES, C. S. A. da.; PONTES, I. V. A. F.; TORRES, J. B.; BARROS, R. New Records of Natural Enemies of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) in Pernambuco, Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 39, p. 835-838, 2010b.

SOARES, M. A.; GUTIERREZ, C. T.; ZANUNCIO, J. C.; PEDROSA, A. R. P.; LORENZON, A. S. Superparasitismo de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) y comportamiento de defensa de dos hospederos. **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 35, p. 62-65, 2009.

STRAND, M. R. The insect cellular immune response. **Insect Science**, v. 15, p. 1-14, 2008.

VACARI, A. M.; DE BORTOLI, S. A.; BORBA, D. F.; MARTINS, M. I. E. G. Quality of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) reared at different host densities and the estimated cost of its commercial production. **Biological Control**, v. 63, p. 102-106, 2012.

VARGAS, E. L.; PEREIRA, F. F.; TAVARES, M. T.; PASTORI, P. L. Record of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Diatraea* sp. (Lepidoptera: Crambidae) in sugarcane crop in Brazil. **Entomotropica**, v. 26, p. 135-138, 2011.

VARGAS, E. L.; PEREIRA, F. F.; GLAESER, D. F.; CALADO, V. R. F.; OLIVEIRA, F. G. de.; PASTORI, P. L. Searching and parasitism of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) by *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae). **Acta Biológica Colombiana**, v. 18, p. 259-264, 2013.

Tabela 1. Características biológicas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) com uma, três e sete fêmeas por pupa de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae), combinadas com os períodos de parasitismo de 24, 48 e 72 horas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 horas.

| Períodos de parasitismo                        | Densidades de fêmeas |            |            |
|------------------------------------------------|----------------------|------------|------------|
|                                                | 1♀                   | 3♀         | 7♀         |
| <b>Parasitismo (%)<sup>ns</sup></b>            |                      |            |            |
| 24 h                                           | 100±0,00             | 100±0,00   | 100±0,00   |
| 72 h                                           | 100±0,00             | 100±0,00   | 100±0,00   |
| 96 h                                           | 100±0,00             | 100±0,00   | 100±0,00   |
| <b>Emergência (%)<sup>ns</sup></b>             |                      |            |            |
| 24 h                                           | 100±0,00             | 100±0,00   | 100±0,00   |
| 72 h                                           | 100±0,00             | 100±0,00   | 100±0,00   |
| 96 h                                           | 100±0,00             | 100±0,00   | 100±0,00   |
| <b>Ciclo de vida (ovo-adulto)<sup>ns</sup></b> |                      |            |            |
| 24 h                                           | 16,40±0,13           | 16,33±0,10 | 16,33±0,11 |
| 72 h                                           | 16,35±0,13           | 16,00±0,00 | 16,00±0,00 |
| 96 h                                           | 16,30±0,10           | 16,33±0,11 | 16,00±0,00 |
| <b>Razão sexual<sup>ns</sup></b>               |                      |            |            |
| 24 h                                           | 0,94±0,01            | 0,93±0,00  | 0,93±0,01  |
| 72 h                                           | 0,95±0,00            | 0,91±0,01  | 0,87±0,01  |
| 96 h                                           | 0,96±0,00            | 0,93±0,01  | 0,84±0,01  |

<sup>ns</sup> Não significativo pela análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de probabilidade.

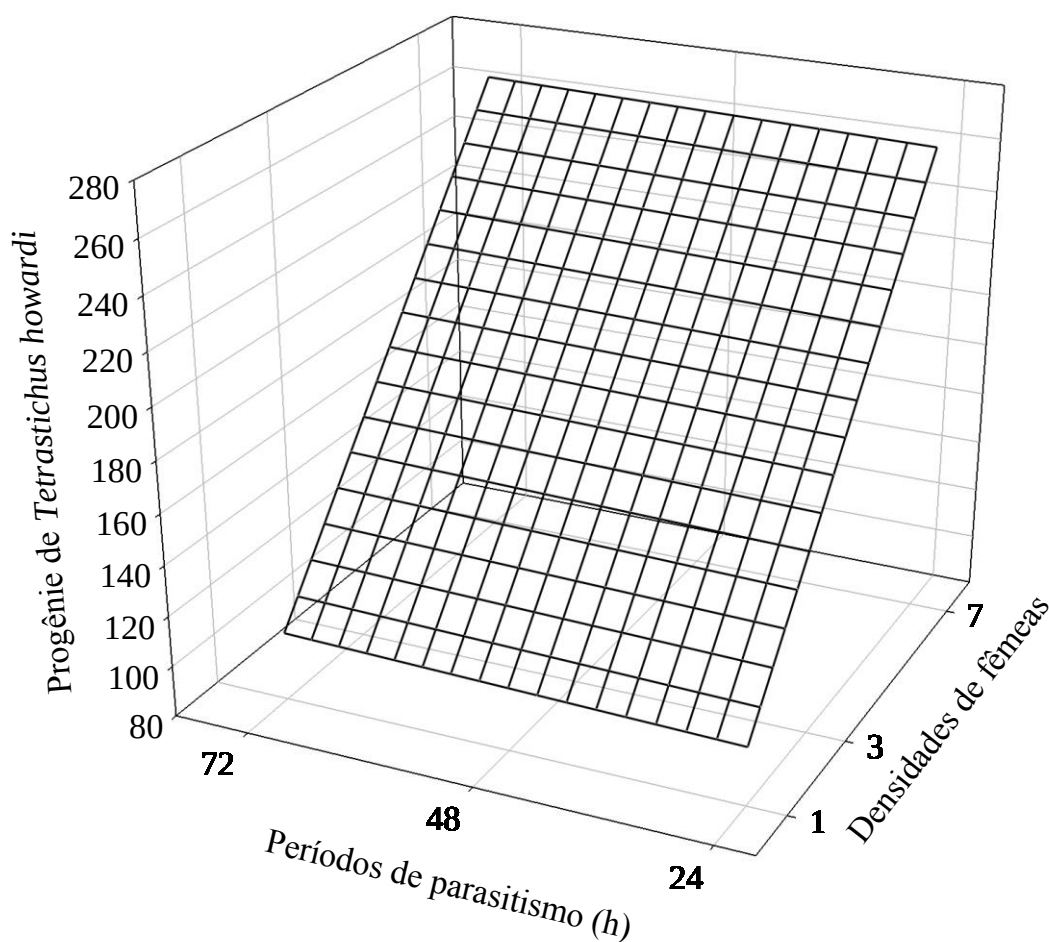


Figura 1. Progênie de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) com uma, três e sete fêmeas por pupa de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) combinadas com os períodos de parasitismo de 24, 48 e 72 horas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas mantidas constantes ( $\hat{y} = 74,478 + 26,6446x + 0,0793401y$ ) ( $R^2 = 0,7369$ ) ( $F = 499,9175$ ;  $P = 0,0001$ ).

Tabela 2. Características biológicas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) com uma, três e sete fêmeas por pupa de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae), independente do período de parasitismo a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 horas.

| Características biológicas         | Densidades de fêmeas |             |             |
|------------------------------------|----------------------|-------------|-------------|
|                                    | 1♀                   | 3♀          | 7♀          |
| Progênie                           | 84,88±1,97           | 188,29±4,92 | 254,78±4,60 |
| Fêmeas produzidas por fêmeas       | 80,62±2,28           | 57,91±1,73  | 30,72±0,70  |
| Total fêmeas produzidas por fêmeas | 80,62                | 173,73      | 215,04      |



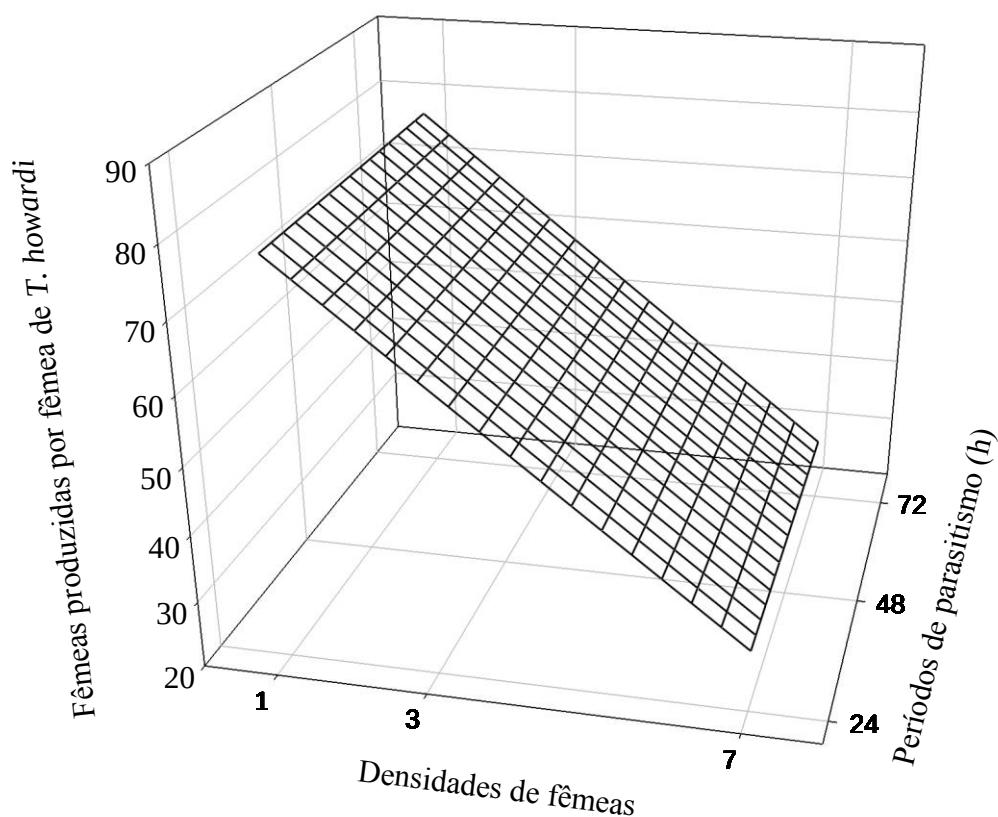


Figura 2. Progênie de fêmeas produzidas por fêmea de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) com uma, três e sete fêmeas por pupa de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) combinadas com os períodos de parasitismo de 24, 48 e 72 horas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas mantidas constantes ( $\hat{y} = 85,7523 - 8,09969x + 0,0075638y$ ) ( $R^2 = 0,7012$ ) ( $F = 418,9665$ ;  $P = 0,0001$ ).

### Capítulo III

**Eficiência de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) e *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) para localizar e parasitar lagartas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar**

**Eficiência de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) e *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) para localizar e parasitar lagartas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar**

**RESUMO:** O controle biológico de insetos que ocasionam danos nas culturas agrícolas depende da capacidade do parasitoide localizar e parasitar o hospedeiro. O objetivo foi verificar a habilidade dos parasitoides *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) e *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) em localizar e parasitar lagartas de terceiro ínstar de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae). Em laboratório foram utilizados 300 internódios de cana-de-açúcar (20 cm) com orifícios onde foram introduzidas duas lagartas de *D. saccharalis* de terceiro ínstar. Cada internódio foi colocado em recipientes de Politereftalato de etileno (PET), com capacidade de (2 L), com 28 fêmeas de *C. flavipes* ou 28 de *T. howardi* ou ainda 14 fêmeas de *C. flavipes* + 14 fêmeas de *T. howardi*. Após 96 horas de exposição ao parasitismo, as lagartas foram individualizadas em placas de Petri (6,5 x 2,5 cm) e mantidas a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  UR e 14 horas de fotoperíodo. No segundo experimento, para analisar a capacidade de busca e parasitismo em campo, em cada repetição foi utilizado um internódio de cana-de-açúcar (20 cm) com orifícios onde foram introduzidas duas lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis*. Os internódios foram presos em um colmo de planta de cana-de-açúcar e estas cobertas, individualmente, com uma gaiola de tecido 'voil' sendo posteriormente liberadas em seu interior, 56 fêmeas de *T. howardi* ou 56 de *C. flavipes* ou ainda 28 fêmeas de *T. howardi* + 28 de *C. flavipes*. Após 96 horas de exposição ao parasitismo, as lagartas foram coletadas e individualizadas em placas de Petri (6,5 x 2,5 cm) e mantidas a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  UR e 14 horas de fotoperíodo. Em laboratório houve emergência de progênie apenas ao se utilizar *T. howardi* (16%), apesar de o parasitismo ser realizado na fase de lagarta de *D. saccharalis*, a emergência dos parasitoides ocorreram nas fases de lagarta e de pupa desse inseto. A progênie de *T. howardi* foi de  $139,00 \pm 0,00$  e  $164,19 \pm 8,19$  indivíduos emergidos nas fases de lagarta e pupa de *D. saccharalis*, respectivamente. Em campo houve emergência de progênie com *C. flavipes* (50%) e na interação de *C. flavipes* e *T. howardi* (23,08%). O número de indivíduos emergidos de lagartas parasitadas por *C. flavipes* foi de  $53,55 \pm 3,34$ . Lagartas submetidas ao parasitismo pelos dois parasitoides apresentaram emergência de 62%. Por outro lado, essa emergência foi de somente indivíduos da espécie *C. flavipes*. Os parasitoides *C. flavipes* e *T. howardi* localizaram e parasitaram lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis* em internódios de cana-de-açúcar em condições de laboratório e campo.

Palavras-chave: Parasitismo, localização do hospedeiro, associação de parasitoides.

**ABSTRACT:** The biological control of insects that cause damage to crops depends on the ability of the parasitoid to locate and parasitize the host. The objective was to verify the ability of the parasitoids *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) and *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) to locate and parasitize larvae of third instar *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae). In laboratory were used 300 internodes of sugarcane (20 cm) with orifice where they were introduced two caterpillars of *D. saccharalis* third instar. Each internode was placed in recipient of Polyethylene terephthalate (PET), with capacity of (2 L), with 28 females of *C. flavipes* or 28 of *T. howardi* or 14 of females *C. flavipes* + 14 females of *T. howardi*. After 96 hours of exposure to parasitism, the larvae were kept individually in Petri dishes (6.5 x 2.5 cm) and maintained at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  RH and 14 h photoperiod. In the second experiment, to analyze the ability of localize and parasitize in the field, each repetition was used internode of sugarcane (20 cm) with two orifices which were introduced from third instar larvae of *D. saccharalis*. Internodes were arrested in a plant sugarcane and they covered individually with a cage of fabric 'voil' being released later in its interior, 56 females of *T. howardi* or 56 *C. flavipes* or 28 females of *T. howardi* + 28 *C. flavipes*. After 96 hours of exposure to parasitism, the larvae were collected and individually placed in Petri dishes (6.5 x 2.5 cm) and maintained at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  RH and 14 h photoperiod. Emergency laboratory progeny was only when using *T. howardi* (16%), although the parasitic be performed during the caterpillar *D. saccharalis*, the emergence of parasitoids occurred in the stages of caterpillar and pupa of this insect. The progeny of *T. howardi* was  $139.00 \pm 0.00$  and  $164.19 \pm 8.19$  individuals emerged in the larval and pupal stages of *D. saccharalis*, respectively. In the field there was emergence of progeny with *C. flavipes* (50%) and in the interaction of *C. flavipes* and *T. howardi* (23.08%). The number of emerged individuals of parasitized by *C. flavipes* was  $53.55 \pm 3.34$ . Caterpillars subjected to parasitism by the two parasitoids showed emergence of 62%. On the other hand, it was only emergency individuals of the species *C. flavipes*. The parasitoid *C. flavipes* and *T. howardi* located and parasitized third instar *D. saccharalis* in internodes of sugarcane in the laboratory and field.

**Keywords:** Parasitism, host location, association of parasitoids

## INTRODUÇÃO

Entender os tipos de interações ao se utilizar múltiplas espécies de parasitoides é fundamental para a eficiência desses inimigos naturais em programas de controle biológico aplicado (MILLS, 2006; CHICHERA et al., 2012; YANG et al., 2013). Programas de controle biológico que utilizam múltiplos agentes de controle têm mais chances de serem bem sucedidos que aqueles que utilizam agente único (DENOTH et al., 2002). Parasitoides têm alta especialização comportamental e fisiológica na competição por recursos, porém, aqueles que parasitam o mesmo estágio de desenvolvimento do hospedeiro podem apresentar competição interespecífica (ULYSHEN et al., 2010).

Competição interespecífica entre parasitoides podem afetar seu estabelecimento ou eficácia no controle biológico de pragas alvo (YANG et al., 2013). Interações interespecíficas envolvendo parasitoides podem ocorrer entre adultos em busca de hospedeiros ou quando suas larvas se desenvolvem no mesmo hospedeiro (HARVEY et al., 2013). No entanto, a maioria das pesquisas tem evidenciado que quando o mesmo hospedeiro é atacado por parasitoides concorrentes, apenas um parasitoide pode concluir com êxito o desenvolvimento devido a competição intrínseca entre larvas do parasitoide (LIU et al., 2001; ULYSHEN et al., 2010). Poucos estudos mostraram que duas espécies competidoras de parasitoides foram capazes de coexistir dividindo o recurso (MAGDARAOG et al., 2012).

*Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) é um endoparasitoide larval gregário eficiente no controle da broca-da-cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) (PINHEIRO; ROSSI; CÔNSOLI, 2010). *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide gregário e apresenta potencial para ser utilizado como alternativa de controle de lepidópteros-praga (BAITHA et al., 2004; LA SALLE e POLASZEK, 2007; PRASAD et al., 2007). A espécie *T. howardi* foi registrada como parasitoide das famílias Crambidae (CRUZ et al., 2011), Noctuidae, Pyralidae (KFIR et al., 1993; LA SALLE e POLASZEK, 2007) e Plutellidae (SILVA-TORRES et al., 2010), as quais incluem diversos lepidópteros que ocasionam danos às culturas agrícolas. Recentemente, Vargas et al. (2011) registraram a capacidade desse inseto em parasitar e se desenvolver em larvas e pupas de *D. saccharalis*.

Insetos-praga são fator limitante na produção de cana-de-açúcar e *D. saccharalis* é considerado de grande importância por causar prejuízos expressivos nessa cultura (DINARDO-MIRANDA et al., 2011; 2012) e em menor escala em culturas como arroz (LV et al., 2011), milho e sorgo. As lagartas desse lepidóptero se desenvolvem no interior dos colmos das plantas, impossibilitando a eficácia de controle com produtos químicos (CRUZ et al., 2011), sendo importante a utilização de métodos alternativos para o controle do inseto.

O sucesso de programas de controle biológico depende da avaliação da capacidade de localização dos inimigos naturais por seus hospedeiros (PRATISSOLI et al., 2005a; CHICHERA et al., 2012; PASTORI et al., 2013). Além de ser capaz de localizar o hospedeiro, um bom agente de controle biológico da broca-da-cana deve conseguir penetrar nas galerias produzidas nas plantas (VARGAS et al., 2013).

Informações sobre as interações antagônicas ou sinérgicas entre *C. flavipes* e *T. howardi* ainda são desconhecidas. Entretanto, para uso desses agentes de controle biológico é fundamental o conhecimento de suas características biológicas e suas interações com o hospedeiro (PASTORI et al., 2012b). Dessa forma, o objetivo do estudo foi comparar a capacidade de *C. flavipes* e de *T. howardi* em localizar e parasitar lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis* no interior de internódios de cana-de-açúcar em laboratório e campo.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Entomologia/Controle Biológico (LECOBIOL) da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) e em plantio comercial da Usina Monteverde Agro-Energética S/A - Dourados (latitude 23° 32' 30" S; longitude 55° 37' 30" W) em Mato Grosso do Sul, Brasil.

### **Multiplicação do hospedeiro e dos parasitoides.**

*D. saccharalis*: Ovos viáveis foram acondicionados em frascos de vidro (8,5 x 13 cm) contendo dieta artificial a base de farelo de soja, germe de trigo, vitaminas, sais minerais e anticontaminantes para alimentação das lagartas recém eclodidas, onde permaneceram até o terceiro ínstar (ANEXO 1). Essas lagartas foram transferidas para placas de Petri (6,5 x 2,5 cm) contendo uma porção de dieta de realimentação (3 x 1,5

cm) até a formação das pupas (ANEXO 2). As pupas foram recolhidas, sexadas e colocadas 50 (20 machos e 30 fêmeas) por gaiola de PVC (10 x 22 cm) revestidas internamente com folha de papel sulfite como substrato para oviposição. Estes tubos foram fechados com folha de papel sulfite e elástico adaptando procedimentos descritos por Parra (2007) (ANEXO 3).

*C. flavipes*: Adultos do parasitoide foram mantidos em gaiolas de inoculação (recipientes plásticos com capacidade de 100 mL) contendo uma gotícula de mel para alimentação. Lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis*, foram expostas ao parasitismo por fêmea de *C. flavipes* acasalada com 24 horas de emergência. Após serem submetidas ao parasitismo, quatro lagartas foram transferidas para placas de Petri (6,5 x 2,5 cm) contendo uma porção de dieta de realimentação (3 x 1,5 cm) até a formação das pupas de *C. flavipes* à  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa (UR) de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas em sala climatizada. As massas (pupas) foram retiradas e transferidas para as gaiolas de inoculação para a emergência dos adultos parasitoides. Esta metodologia foi adaptada dos procedimentos propostos por Garcia et al. (2009) (ANEXO 3).

*T. howardi*: Adultos do parasitoide foram mantidos em tubos de vidro (2 x 15 cm) vedados com algodão e contendo uma gotícula de mel para alimentação. Pupas de *D. saccharalis*, com 24 a 48 horas de idade, foram expostas ao parasitismo de fêmeas de *T. howardi* durante 24 horas e, após esse período, individualizadas e mantidas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa (UR) de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas em câmara climatizada até a emergência dos adultos (VARGAS et al., 2011) (ANEXO 3).

### **Desenvolvimento experimental.**

**Experimento 1.** Foram utilizados 300 internódios de cana-de-açúcar da variedade (SP 81-3250) com 20 cm de comprimento, nos quais foram feitos dois orifícios e introduzidas duas lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis*. Após a introdução das lagartas, cada internódio foi colocado em recipientes de Politereftalato de etileno (PET), transparentes com capacidade de (2 L) e vedados com filme plástico de PVC. Vinte e oito fêmeas de *T. howardi* ou de *C. flavipes* ou ainda 14 fêmeas de *T. howardi* + 14 de *C. flavipes* com 24 horas de idade, foram liberadas nas garrafas representando os três tratamentos, e o parasitismo foi permitido por 96 horas (tempo de parasitismo

determinado em teste preliminar). As lagartas foram retiradas dos orifícios, individualizadas em placas de Petri (6,5 x 2,5 cm) contendo uma porção de dieta de realimentação e mantidas em sala climatizada a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  UR e 14 horas de fotoperíodo até a emergência dos parasitoides. A mortalidade natural do hospedeiro foi observada nas condições do experimento, com 40 lagartas de *D. saccharalis* introduzidas nos orifícios dos internódios, e submetidos as mesmas condições descritas para os tratamentos, porém sem exposição a parasitoides, sendo determinado posteriormente o número de adultos de *D. saccharalis* emergidos.

As características biológicas avaliadas foram o parasitismo [(número de lagartas de *D. saccharalis* com emergência de parasitoides + lagartas sem emergência de adultos de *D. saccharalis*)/(número de lagartas)  $\times$  100)]; a emergência [(número de lagartas de *D. saccharalis* com emergência de adultos dos parasitoides)/(número de lagartas parasitadas)  $\times$  100)]; a duração do ciclo de vida (ovo -adulto); o número de parasitoides emergidos por lagarta (progênie) e a razão sexual (número de fêmeas/número de adultos). O sexo dos indivíduos parasitoides foi determinado de acordo com o dimorfismo das antenas de *T. howardi* (LA SALLE e POLASZEK, 2007) e *C. flavipes* (WILKINSON, 1928).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três tratamentos e 10 repetições, sendo cada repetição constituída por 10 internódios de cana-de-açúcar e 20 lagartas de *D. saccharalis*, totalizando 200 lagartas por tratamento. Os dados das características biológicas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, quando significativos, ao teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Experimento 2.** Para o experimento em questão, em cada repetição foi utilizado um internódio de cana-de-açúcar da variedade (SP 81-3250) com 20 cm de comprimento, nos quais foram feitos dois orifícios e introduzidas duas lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis*. Os internódios foram fixados com elástico de borracha látex em um colmo de planta de cana-de-açúcar de nove meses de idade, selecionado aleatoriamente na área experimental. Após a fixação dos internódios as plantas foram cobertas, individualmente, com uma gaiola (1,5 m de diâmetro e 3 m de altura), confeccionada com tecido ‘voil’, sendo posteriormente liberadas, 56 fêmeas de *T. howardi* ou de *C. flavipes* ou ainda 28 fêmeas de *T. howardi* + 28 de *C. flavipes* com 24 horas de idade por gaiola. As fêmeas foram contadas e colocadas em tubos de vidro (1,5 x 10 cm) contendo uma gotícula de mel para alimentação dos parasitoides. Na liberação, ocorrida



na parte da manhã, os tubos com os parasitoides foram presos à base de cada planta envolvida pela gaiola. A exposição ao parasitismo foi permitida por 96 horas e, após esse período, os internódios foram retirados, catalogados e encaminhados ao LECOBIO. As lagartas foram retiradas dos orifícios, individualizadas em placas de Petri (6,5 x 2,5 cm) contendo uma porção de dieta de realimentação e mantidas em sala climatizada a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  UR e 14 horas de fotoperíodo até a emergência dos parasitoides. A mortalidade natural dos hospedeiros foi observada nas condições do experimento, com 26 lagartas de *D. saccharalis* introduzidas nos orifícios dos internódios e fixados nas plantas, cobertas, individualmente, com uma gaiola (1,5 m de diâmetro e 3 m de altura), confeccionada com tecido 'voil', sem liberação de parasitoides sendo determinado posteriormente o número de adultos de *D. saccharalis* emergidos. Na área experimental, as temperaturas máxima e mínima foram  $26,91 \pm 0,87$  e  $18,00 \pm 0,75^\circ\text{C}$ , respectivamente, a umidade relativa média foi  $77 \pm 3,63\%$  e a pluviosidade média  $10,68 \pm 10,06$  mm.

O parasitismo, a emergência, a duração do ciclo de vida (ovo-adulto), a progênie e a razão sexual dos parasitoides foram avaliados semelhante ao experimento 1.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados com três tratamentos e 13 repetições, sendo cada repetição constituída por duas lagartas, totalizando 26 lagartas por tratamento. Os dados das características biológicas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, quando significativos, ao teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS

### Experimento 1.

*Cotesia flavipes* e *T. howardi* localizaram e parasitaram lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis* no interior de internódios de cana-de-açúcar laboratório. O parasitismo foi 100, 67 e 99% de *C. flavipes*, *T. howardi* e na interação de *C. flavipes* e *T. howardi*, respectivamente ( $F= 73,635$ ;  $P= 0,0000$ ).

Houve emergência de progênie ao se utilizar somente *T. howardi* (16%), apesar de o parasitismo ser realizado na fase de lagarta de *D. saccharalis*, a emergência dos parasitoides ocorreu nas fases de lagarta e de pupa desse inseto (Figura 1).

A duração do ciclo de vida (ovo-adulto) de *T. howardi* no hospedeiro *D. saccharalis* foi de  $17,00 \pm 0,00$  dias com emergência de parasitoides na fase de lagarta e  $17,65 \pm 0,15$  dias com emergência na fase de pupa (Tabela 1).

A progênie de *T. howardi* foi de  $139,00 \pm 0,00$  e  $164,19 \pm 8,19$  indivíduos emergidos nas fases de lagarta e pupa de *D. saccharalis*, respectivamente (Tabela 1). A razão sexual dos parasitoides em *D. saccharalis* nas fases de lagarta foi de  $0,70 \pm 0,00$  e na pupa  $0,63 \pm 0,03$  (Tabela 1).

## Experimento 2.

Lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis* foram localizadas em campo e parasitadas por *C. flavipes* (61,54%), *T. howardi* (19,23%) e na interação de *C. flavipes* e *T. howardi* (46,15%) ( $F= 5,417$ ;  $P= 0,0114$ ) (Figura 2). Houve emergência de progênie com *C. flavipes* (50%) e na interação de *C. flavipes* e *T. howardi* (23,08%), emergindo somente parasitoides de *C. flavipes* ( $F= 9,779$ ;  $P= 0,0000$ ) (Figura 2).

A duração do ciclo de vida (ovo-adulto) com *C. flavipes* e na interação de *C. flavipes* e *T. howardi* em lagartas de *D. saccharalis* foi de  $19,82 \pm 1,55$  dias e  $20,33 \pm 1,65$  dias, respectivamente (Tabela 2).

O número de indivíduos emergidos de lagartas parasitadas por *C. flavipes* foi de  $53,55 \pm 3,34$ . Lagartas submetidas ao parasitismo pelos dois parasitoides apresentaram emergência de 62%. Por outro lado, essa emergência foi de somente indivíduos da espécie *C. flavipes* (Tabela 2). A razão sexual dos parasitoides foi  $0,74 \pm 0,05$  utilizando somente *C. flavipes* e  $0,75 \pm 0,12$  na interação de *C. flavipes* e *T. howardi* (Tabela 2).

## DISCUSSÃO

Lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis* foram localizadas e parasitadas no interior de internódios de cana-de-açúcar, em laboratório, por *C. flavipes* e *T. howardi*. Os maiores índices de parasitismo foram obtidos por *C. flavipes* (100%) e na sua interação com *T. howardi* (99%). Esse fato pressupõe que *T. howardi* na densidade de 14 fêmeas não reduziu o parasitismo total em lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis*. É possível que *T. howardi* não apresente implicações diretas na capacidade de parasitismo de *C. flavipes* e, conseqüentemente, em sua possível utilização complementar em programas de controle biológico.

Devido ao confinamento e a alta densidade de fêmeas utilizadas nesse experimento não foi observada emergência de *C. flavipes* no tratamento com a sua utilização individual e na interação com *T. howardi*. O que pode estar relacionado ao fato de que fêmeas parasitoides podem injetar toxinas durante a oviposição, estas são necessárias para reduzir a resposta imunológica do hospedeiro, um mecanismo de defesa utilizado para encapsular ovos ou larvas do parasitoide (PENNACCHIO e STRAND, 2006). No entanto, doses elevadas de toxinas injetadas por muitas fêmeas parasitoides pode matar o hospedeiro antes que ocorra o desenvolvimento completo do imaturo (STRAND, 2008; ANDRADE et al., 2010). A adequação da densidade de parasitoides por hospedeiro é utilizada para equilibrar o número e qualidade de parasitoides produzidos, o que é atribuído aos recursos nutricionais para o desenvolvimento dos mesmos (PEREIRA et al., 2010b).

O parasitismo (69%) e a emergência (16%) de *T. howardi* são indicativos de que a espécie é capaz de parasitar e se desenvolver em lagartas de *D. saccharalis* em laboratório. O parasitoide *T. howardi* tem sido registrado parasitando pupas (CRUZ et al., 2011) e lagartas (VARGAS et al., 2011) desse lepidóptero e essa característica de parasitar e se desenvolver nessas duas fases de *D. saccharalis* pode garantir e favorecer a sobrevivência do inimigo natural em laboratório, visando sua multiplicação, enquanto no campo, são aumentadas suas chances de encontrar o hospedeiro para reprodução. *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) parasitou 50% das pupas de *D. saccharalis* introduzidas nos colmos de cana-de-açúcar. Quando estas pupas foram introduzidas juntamente com lagartas de *D. saccharalis* o parasitismo foi de 83,33%. Segundo os autores a presença de lagartas favoreceu a localização e parasitismo por *T. diatraeae* devido à percepção e identificação de substâncias liberadas pelas lagartas (VARGAS et al., 2013). Chichera et al. (2012) observaram que *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) e *T. diatraeae* liberados em conjunto não parasitaram pupas de *D. saccharalis* no interior de colmos de cana-de-açúcar. No entanto, *T. diatraeae* apresentou 56% de parasitismo e *P. elaeisis* aproximadamente 35%, quando liberados individualmente. Nesse caso, a liberação conjunta pode ter ocasionado competição interespecífica entre os parasitoides impedindo o parasitismo. O mesmo não foi observado para *T. howardi* e *C. flavipes* quando liberados em conjunto, apresentando 99% de parasitismo em lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis*, indicando que, possivelmente, não houve competição interespecífica entre os parasitoides na densidade utilizada.

O período total de desenvolvimento de *T. howardi* foi cerca de 17 dias, enquanto que, o de *D. saccharalis* é de 40 dias (PINTO et al., 2009). Essa característica é importante para o controle biológico de *D. saccharalis*, pois o desenvolvimento mais rápido do parasitoide permite que o mesmo tenha maior número de gerações que o hospedeiro, podendo estabilizar ou reduzir a densidade populacional desse hospedeiro no campo (DINARDO-MIRANDA et al., 2012; RODRIGUES, et al., 2013).

Fêmeas de *C. flavipes* viveram de um a dois dias, morrendo antes do período final de parasitismo permitido no experimento, enquanto que, a maioria dos indivíduos de *T. howardi* permaneceram vivos ao final do período de parasitismo. Maior longevidade de fêmeas parasitoides, certamente favorece a localização do hospedeiro e reprodução quando liberados em campo. Além disso, quanto maior a longevidade do adulto, maior o tempo para transporte das biofábricas para os locais de liberação (CHICHERA et al., 2012). Isso nos permite evidenciar que liberações de *T. howardi* podem resultar em aumento na eficiência de parasitismo sobre *D. saccharalis*, principalmente em situações em que fatores bióticos e abióticos influenciam negativamente *C. flavipes*.

Apesar da razão sexual não atingir taxas superiores a 90%, como relatado para *P. elaeisis* e *T. diatraeae* em pupas de *D. saccharalis* (CHICHERA et al., 2012), a proporção de fêmeas foi maior em relação a de machos para *T. howardi*. Esse fato pode ter ocorrido devido ao elevado número de fêmeas parasitoides ovipositando no mesmo hospedeiro, dependendo da espécie o superparasitismo diminui o número de descendência de fêmeas (SOARES et al. 2009). Uma fêmea parasitoide pode evitar o superparasitismo quando reconhece que um hospedeiro foi anteriormente parasitado (GODFRAY, 1994). Entretanto, o superparasitismo pode ser uma estratégia adaptativa em elevadas densidades de fêmeas parasitoides, no sentido de que uma fêmea, ao ovipositar em um hospedeiro anteriormente parasitado, alcançaria uma expectativa reprodutiva mais elevada do que se decidisse rejeitá-lo (MANGEL, 1992). Algumas espécies parasitoides são capazes de ajustar o número e o sexo dos descendentes em função da relação número de fêmeas progenitoras e disponibilidade de hospedeiro (GODFRAY, 1994; BURTON-CHELLEW et al., 2008) e de acordo com o tamanho ou qualidade do recurso hospedeiro (AMALIN et al., 2005; SOARES et al., 2009; PASTORI et al., 2012a).

Lagartas de *D. saccharalis* foram localizadas e parasitadas em plantas de cana-de-açúcar quando *C. flavipes* e *T. howardi* foram liberados simultaneamente no

campo, ou quando liberados sozinhos. Não houve diferença significativa no parasitismo entre os tratamentos de *C. flavipes* e na interação dos parasitoides, indicando que *T. howardi* não afetou o parasitismo total, quando utilizados em conjunto. Enquanto, a maior eficiência em parasitar e se desenvolver em lagartas de *D. saccharalis* em colmos de cana-de-açúcar foi observada para *C. flavipes*. Interações entre *Spathius agrili* Yang (Hymenoptera: Braconidae) e *Tetrastichus planipennisi* Yang (Hymenoptera: Eulophidae) também evidenciaram que o braconideo foi mais eficiente em localizar e parasitar larvas de *Agrilus planipennis* Fairmaire (Coleoptera: Buprestidae) em campo (ULYSSEN et al., 2010). A eficiência de um parasitoide pode estar relacionada à sua capacidade de encontrar o hospedeiro no campo (SILVA-TORRES et al., 2009) e envolve químicos voláteis (LUO et al., 2013). A localização química é particularmente valiosa quando os hospedeiros estão ocultos da inspeção visual, alojados em plantas ou em outros tecidos. Em resposta ao ataque de herbívoros, as plantas produzem semioquímicos denominados voláteis induzidos por herbivoria, que agem para repelir insetos-praga e atrair inimigos naturais (KHAN et al., 2008). As fêmeas parasitoides utilizam desses odores para se orientarem em direção ao hospedeiro e possuem propensão refinada e inata para responder em concentrações extremamente baixas (EIRAS e GERK, 2001). Além de ser capaz de localizar o hospedeiro, um bom agente de controle biológico deve conseguir penetrar nas galerias produzidas nas plantas pelos hospedeiros (CHICHERA et al., 2012, VARGAS et al., 2013).

As diferenças no parasitismo de lagartas de *D. saccharalis* por *T. howardi* em campo (19,23%) e no laboratório (67%) podem ser atribuídas à arquitetura das plantas, área de forrageamento e as condições ambientais (temperatura, chuva, vento, intensidade de luz) que interagem e podem interferir na capacidade de parasitismo dos parasitoides. Uma hipótese complementar é a competição interespecífica que pode influenciar na capacidade de parasitismo de inimigos naturais. Ajustes na densidade de fêmeas parasitoides a serem liberadas devem ser realizados para maximizar o parasitismo de hospedeiro no campo. O conhecimento do número de fêmeas de parasitoides a serem liberados em campo pode aumentar a probabilidade de sucesso em programas de controle biológico aplicado (PEREIRA et al., 2010a), pois o número de fêmeas por hospedeiro afeta a capacidade de parasitismo (SAMPAIO et al., 2001). Além disso, a capacidade de dispersão (PRATISSOLI et al., 2005a; PASTORI et al., 2008a; 2013), o número de pontos (PRATISSOLI et al., 2005b), a época e forma de liberação, o período fenológico da planta mais susceptível ao ataque (PASTORI et al.,

2008b), e os mecanismos de dispersão do inseto alvo (ALVES et al., 2005), precisam ser determinadas para assegurar uma boa distribuição e eficiência do parasitoide na área em que se deseja realizar o controle (PEREIRA et al. 2010a).

O método de controle mais eficiente utilizado para a redução das populações de *D. saccharalis* é com o uso do parasitoide larval *C. flavipes* e, a associação desse com o parasitoide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) é ainda mais eficiente na redução da população de *D. saccharalis* (BOTELHO et al., 1999; BROGLIO-MICHELETTI et al., 2007; VACARI et al., 2012). De maneira geral, o objetivo das associações é aumentar a eficiência dos inimigos naturais dentro do programa de controle biológico e a interação de *T. howardi* com os parasitoides de ovos *T. galloi* e de larvas *C. flavipes* no controle de *D. saccharalis* pode contribuir para controle desse inseto. Estudos a campo relatam que o parasitismo total em pupas de *D. saccharalis* por *T. howardi* foi 15,93% e o de larvas por *Lixophaga diatraeae* (Townsend) (Diptera: Tachinidae) 29,05%, no entanto, quando utilizada a interação foi registrado 35,85%, não havendo interações antagônicas entre os parasitoides (FELIX et al., 2005).

*Tetrastichus howardi* apresenta potencial para ser utilizado como complemento no controle de *D. saccharalis*, uma vez que foi capaz de parasitar lagartas e pupas desse lepidóptero em laboratório e campo. Caso *T. howardi* seja utilizado como método de controle biológico aplicado, recomenda-se que esse parasitoide deve ser liberado em momento diferente de *C. flavipes* para se evitar qualquer tipo de competição interespecífica. O fato de *T. howardi* apresentar maior longevidade em relação a *C. flavipes* pode propiciar um maior período de parasitismo em campo desse inimigo natural, levando a complementação de parasitismo por *T. howardi* e *C. flavipes*. Estudos visando determinar a quantidade de parasitoides a serem liberados por unidade de área ou em função da população da praga alvo e ajustes para aprimorar o conhecimento da dispersão desses parasitoides com liberação em uma mesma área, mesmo em momentos diferentes devem ser realizados para se obter maior êxito em programas de controle biológico.

## CONCLUSÃO

Os parasitoides *C. flavipes* e *T. howardi* localizaram e parasitaram lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis* em internódios de cana-de-açúcar em condições de

laboratório e campo. No entanto, atributos de *T. howardi* como sua maior longevidade, pode favorecer a sobrevivência desse inimigo natural no campo, aumentando as chances de localizar e parasitar o hospedeiro por um período mais constante, e consequentemente proporcionar o aumento da eficiência de parasitismo. A elevada razão sexual aliada à capacidade de parasitar duas fases do hospedeiro (lagartas e pupas) e a facilidade de multiplicação em grandes quantidades são peculiaridades do parasitoide *T. howardi*, que o capacita e justificam a possibilidade de ser associado com *C. flavipes* em programas de controle biológico de *D. saccharalis* com tendência a ser mais efetivo.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, E. B.; CASARIN, N. F. B.; OMOTO, C. Mecanismos de dispersão de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae) em pomares de citros. **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 89-96, 2005.
- AMALIN, D. M.; PEÑA, J. E.; DUNCAN, R. E. Effects of host age, female parasitoid age, and host plant on parasitism of *Ceratogramma etiennei* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Florida Entomologist**, v. 88, p. 77-82, 2005.
- ANDRADE, G. S.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C.; ZANUNCIO, T. V.; LEITE, G. L. D.; POLANCZYK, R. A. Immunity of an alternative host can be overcome by higher densities of its parasitoids *Palmistichus elaeisis* and *Trichospilus diatraeae*. **PLoS ONE**, v. 5, e13231, 2010.
- BAITHA, A.; JALALI S. K.; RABINDRA, R. J.; VENKATESAN, T. R. A. O. N. S. Parasitizing efficiency of the pupal parasitoid, *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) on *Chilo partellus* (Swinhoe) at different exposure periods. **Journal of Biological Control**, v. 18, p. 65-68, 2004.
- BOTELHO, P. S. M.; PARRA, J. R. P.; CHAGAS NETO, J. F.; OLIVEIRA, C. P. B. Associação do parasitoide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e do parasitoide larval *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) no controle de *Diatraea saccharalis* (Fabri.) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 28, p. 49-496, 1999.
- BROGLIO-MICHELETTI, S. M. F.; PEREIRA-BARROS, J. L.; SANTOS, A. J. N.; CARVALHO, L. W. T.; CARVALHO, L. H.T.; OLIVEIRA, C. J. T. Effect of the number of *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) adults released by successive weeks, to control *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, p. 53-58, 2007.
- BURTON-CHELLEW, M. N.; KOEVOETS, T.; GRILLENBERGER, B. K.; SYKES, E. M.; UNDERWOOD, S. L.; BIJLSMA, K.; GADAU, J.; ZANDE, L. VAN DE; BEUKEBOOM, L.W.; WEST, S. A.; SHUKER, D. M. Facultative sex ratio adjustment

in natural populations of wasps: cues of local mate competition and precision of adaptation. **American Naturalist**, v. 172, p. 393-404, 2008

CHICHERA, R. A.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; BARBOSA, R. H.; PASTORI, P. L.; ROSSONI, C. Capacidade de busca e reprodução de *Trichospilus diatraeae* e *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Interciencia**, v. 37, p. 852-856, 2012.

CRUZ, I.; REDOAN, A. C.; SILVA, R. B.; FIGUEIREDO, M. L. C.; PENTEADO-DIAS, A. M. New record of *Tetrastichus howardi* (Olliff) as a parasitoid of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) on maize. **Scientia Agricola**, v. 68, p. 252-254, 2011.

DENOTH, M.; FRID, L.; MYERS, J. H. Multiple agents in biological control: improving the odds?. **Biological Control**, v. 24, p. 20-30, 2002.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; FRACASSO, J. V.; PERECIN, D. Variabilidade espacial de populações de *Diatraea saccharalis* em canaviais e sugestão de método de amostragem. **Bragantia**, v.70, p.577-585, 2011.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; ANJOS, I. A.; COSTA, V. P.; FRACASSO, J. V. Resistance of sugarcane cultivars to *Diatraea saccharalis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, p. 1-7, 2012.

EIRAS, A. E.; GERK, A. O. Cairomônios e aprendizagem em parasitoides. In: VILELA, E. F.; DELLA LUCIA, T. M. C. **Feromônios de insetos: biologia, química e aplicação**. Ribeirão Preto: Holos, 2001. 206 p.

FELIX, J.; GONZÁLEZ, A.; OCA, F. N. M. de.; RAVELO, H. G.; BAITHA, A. Interaction of *Lixophaga diatraeae* (Townsend) and *Tetrastichus howardi* (Olliff) for Management of *Diatraea saccharalis* (Fab.) in Cuba. **Sugar Tech**, v. 7, p. 5-8, 2005.

GARCIA, J. F.; BOTELHO, P. S. M.; MACEDO, L. P. M. 2009. Criação do parasitoide *Cotesia flavipes* em laboratório, p. 199-219. In: BUENO, V. H. P.(Ed.). Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade. Lavras: Editora UFLA. Brasil.

GODFRAY, H. C. J. **Parasitoids, behavioral and evolutionary ecology**. Princeton: Princeton University Press, 1994, 488 p.

HARVEY, J. A.; POELMAN, E. H.; TANAKA, T. Intrinsic inter and intraspecific competition in parasitoid wasps. **Annual Review of Entomology**, v. 58, p. 333-51, 2013.

KFIR, R.; GOUWS, J.; MOORE, S. D. Biology of *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae): a facultative hyperparasitoid of stem borers. **Biocontrol Science and Technology**, v. 3, p. 149-159, 1993.

KHAN, Z. R.; JAMES, D. G.; MIDEGA, C. A. O.; PICKETT, J. A. Chemical ecology and conservation biological control. **Biological Control**, v. 45, p. 210-224, 2008.



LA SALLE, J.; POLASZEK, A. Afrotropical species of the *Tetrastichus howardi* species group (Hymenoptera: Eulophidae). **African Entomology**, v. 15, p. 45-56, 2007.

LIU, SHU-SHENG.; WANG, XING-GENG.; SHI, ZU-HUA.; GEBRMESKEL, F. B. The biology of *Diadromus collaris* (Hymenoptera: Ichneumonidae), a pupal parasitoid of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae), and its interactions with *Oomyzus sokolowskii* (Hymenoptera: Eulophidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 91, p. 461-469, 2001.

LUO, S.; MICHAUD, P. P.; LI, J.; LIU, X.; ZHANG, Q. Odor learning in *Microplitis mediator* (Hymenoptera: Braconidae) is mediated by sugar type and physiological state. **Biological Control**, v. 65, p. 207-211, 2013.

LV, J.; WILSON, L. T.; BEUZELIN, J. M.; WHITE, W. H.; REAGAN, T. E.; WAY, M. O. Impact of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) as an augmentative biocontrol agent for the sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) on rice. **Biological Control**, v. 56, p. 159-169, 2011.

MAGDARAOG, P. M.; HARVEY, J. A.; TANAKA, T.; GOLS, T. Intrinsic competition among solitary and gregarious endoparasitoid wasps and the phenomenon of 'resource sharing'. **Ecological Entomology**, v. 37, p. 65-74, 2012.

MANGEL, M. Descriptions of superparasitism by optimal foraging theory, evolutionary stable strategies and quantitative genetics. **Evolutionary Ecology**, v. 6, p. 152-169, 1992.

MILLS, N. Interspecific Competition among Natural Enemies and Single Versus Multiple Introductions in Biological Control. **Progress in Biological Control**, v. 3, p. 191-220, 2006.

PARRA, J. R. P. **Técnicas de Criação de Insetos para Programa de Controle Biológico**. 6 ed. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 2007. 134 p.

PASTORI, P. L.; MONTEIRO, L. B.; BOTTON, M. Capacidade de dispersão de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em pomar adulto de macieira. **Boletín Sanidad Vegetal Plagas**, v. 34, p. 239-245, 2008a.

PASTORI, P. L.; MONTEIRO, L. B.; BOTTON, M.; SOUZA, A.; POLTRONIERI, A. S.; SCHUBER, J. M. Parasitismo de ovos da lagarta-enroladeira-da-maçã em função do número de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) liberado. **Scientia Agraria**, v. 9, p. 497-504, 2008b.

PASTORI, P. L.; PEREIRA, F. F.; ANDRADE, G. S.; SILVA, R. O.; ZANUNCIO, J. C.; PEREIRA, A. I. A. Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) in pupae of two lepidopterans defoliators of eucalypt. **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 38, p. 91-93, 2012a.

PASTORI, P. L.; ZANUNCIO, J. C.; PEREIRA, F. F.; PRATISSOLI, D.; CECON, P. R. desenvolvimento e exigências térmicas de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandu (Hymenoptera: Eulophidae) criado em pupas de *Anticarsia gemmatilis*

(Hubner) (Lepdoptera: Noctidae). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 10, p. 79-85, 2012b.

PASTORI, P. L.; PEREIRA, F. F.; PRATISSOLI, D.; ZANUNCIO, J. C.; OLIVEIRA, F. A. L.; ZAIDAN, U. R. Dispersão de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) em plantio de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 8, p. 85-89, 2013.

PENNACCHIO, F.; STRAND, M. R. Evolution of developmental strategies in parasitic Hymenoptera. **Annual Review Entomology**, v. 51, p. 233-58, 2006.

PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; PASTORI, P. L.; PEDROSA, A. R. P.; OLIVEIRA, H. N. de. Parasitism of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) in alternative host on eucalypt in semi-field. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, p. 715-720, 2010a.

PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, T. V.; PRATISSOLI, D.; PASTORI, P. L. The density of females of the *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). **Anais da Acadadêmia Brasileira de Ciências**, v. 81, p. 323-331, 2010b.

PINHEIRO, D. O.; ROSSI, G. D.; CÔNSOLI, F. L. External morphology of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) during larval development. **Zoologia**, v. 27, p. 986-992, 2010.

PINTO, A. S.; BOTELHO, P. S. M.; OLIVEIRA, H. N. de. **Guia Ilustrado de Pragas da Cana-de-Açúcar**. CP2. Piracicaba, Brasil, 2009.160 p.

PRASAD, K. S.; ARUNA, A. S.; KUMAR, V.; KARIAPPA, B. K. Feasibility of mass production of *Tetrastichus howardi* (Olliff), a parasitoid of leaf roller (*Diaphania pulverulentalis*), on *Musca domestica* (L.). **Indian Journal of Sericulture**, v. 46, p. 89-91, 2007.

PRATISSOLI, D.; VIANA, U. R.; ZAGO, H. B.; PASTORI, P. L. Capacidade de dispersão de *Trichogramma* em tomateiro estaqueado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, p. 613-616, 2005a.

PRATISSOLI, D.; THULER, R. T.; ANDDRADE, G. S.; ZANOTTI, L. C. M.; SILVA, A. F. da. Estimativa de *Trichogramma pretiosum* para o controle de *Tuta absoluta* em tomateiro estaqueado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, p. 715-718, 2005b.

RODRIGUES, M. A. T.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; PASTORI, P. L.; GLAESER, D. F.; OLIVEIRA, H. N. de.; ZANUNCIO, J. C. Thermal Requirements and Generation Estimates of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) in Sugarcane Producing Regions of Brazil. **Florida Entomologist**, v. 96, p. 154-159, 2013.

SAMPAIO, M. V.; BUENO, V. H. P.; MALUF, R. P.; Parasitismo de *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Aphidiidae) em diferentes densidades de *Mysus*

*persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**, v. 30, p. 81-87, 2001.

SILVA-TORRES, C. S. A. da.; BARROS, R.; TORRES, J. B. Efeito da idade, fotoperíodo e disponibilidade de hospedeiro no comportamento de *Oomyzus sokolowskii* Kurdjumov (Hymenoptera: Eulophidae). **Neotropical Entomology**, v. 38, p. 512-519, 2009.

SILVA-TORRES, C. S. A. da.; PONTES, I. V. A. F.; TORRES, J. B.; BARROS, R. New Records of Natural Enemies of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) in Pernambuco, Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 39, p. 835-838, 2010.

SOARES, M. A.; GUTIERREZ, C. T.; ZANUNCIO, J. C.; PEDROSA, A. R. P.; LORENZON, A. S. Superparasitismo de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) y comportamiento de defensa de dos hospederos. **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 35, p. 62-65, 2009.

STRAND, M. R. The insect cellular immune response. **Insect Science**, v. 15, p. 1-14, 2008.

ULYSHEN, M. D.; DUAN, J. J.; BAUER, L. S. Interactions between *Spathius agrili* (Hymenoptera: Braconidae) and *Tetrastichus planipennisi* (Hymenoptera: Eulophidae), larval parasitoids of *Agrilus planipennis* (Coleoptera: Buprestidae). **Biological Control**, v. 1, p. 188-193, 2010.

VACARI, A. M.; DE BORTOLI, S. A.; BORBA, D. F.; MARTINS, M. I. E. G. Quality of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) reared at different host densities and the estimated cost of its commercial production. **Biological Control**, v. 63, p. 102-106, 2012.

VARGAS, E. L.; PEREIRA, F. F.; TAVARES, M. T.; PASTORI, P. L. Record of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Diatraea* sp. (Lepidoptera: Crambidae) in sugarcane crop in Brazil. **Entomotropica**, v. 26, p. 135-138, 2011.

VARGAS, E. L.; PEREIRA, F. F.; GLAESER, D. F.; CALADO, V. R. F.; OLIVEIRA, F. G. de.; PASTORI, P. L. Searching and parasitism of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) by *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae). **Acta Biológica Colombiana**, v. 18, p. 259-264, 2013.

YANG, S.; DUAN, J. J.; LELITO, J.; DRIESCHE, R. V. Multiparasitism by *Tetrastichus planipennisi* (Hymenoptera: Eulophidae) and *Spathius agrili* (Hymenoptera: Braconidae): Implication for biological control of the emerald ash borer (Coleoptera: Buprestidae). **Biological Control**, v. 65, p. 118-123, 2013.

WILKINSON, D. S. A revision of the Indo-Australian species of the genus *Apanteles* (Hym.: Braconidae). Part I. **Bulletin of Entomological Research**, v. 19, p. 79-105, 1928.

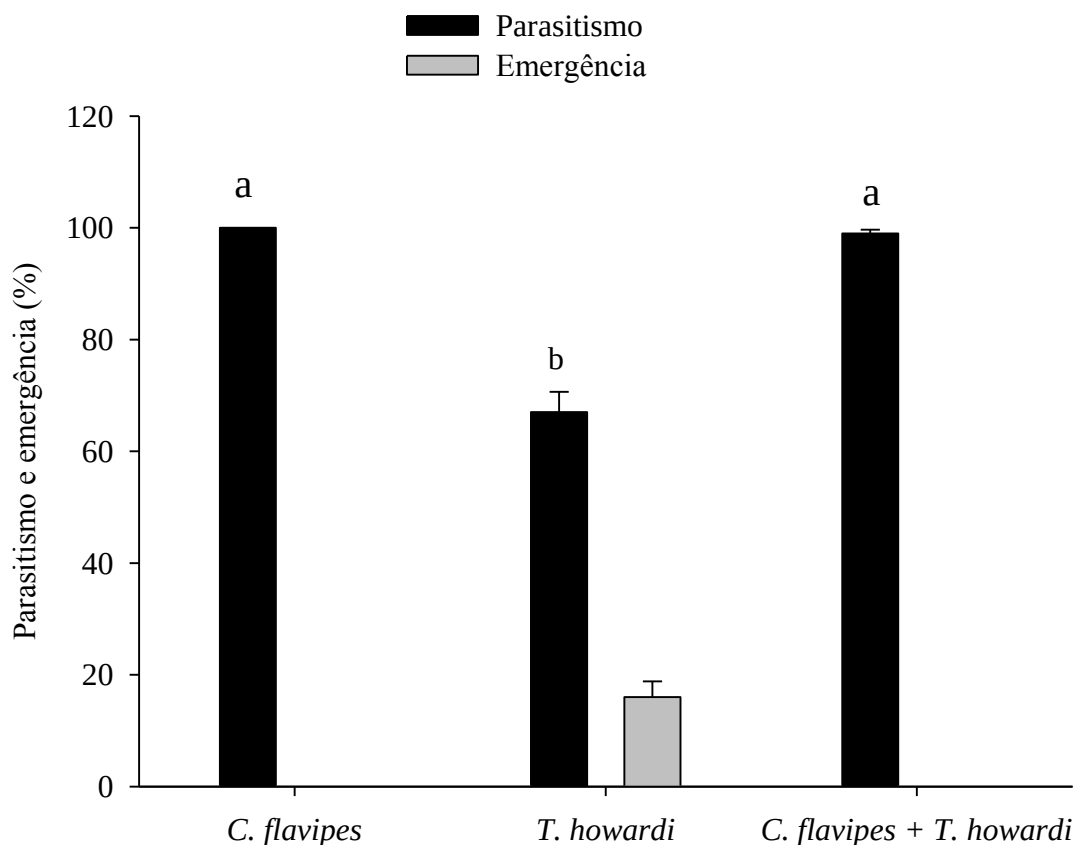


Figura 1. Parasitismo e emergência de *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) e *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em lagarta de terceiro ínstar de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) introduzidas em internódios de cana-de-açúcar em laboratório a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 horas (parasitismo  $F= 73,635$ ;  $P= 0,0000$ ) (\*Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade).

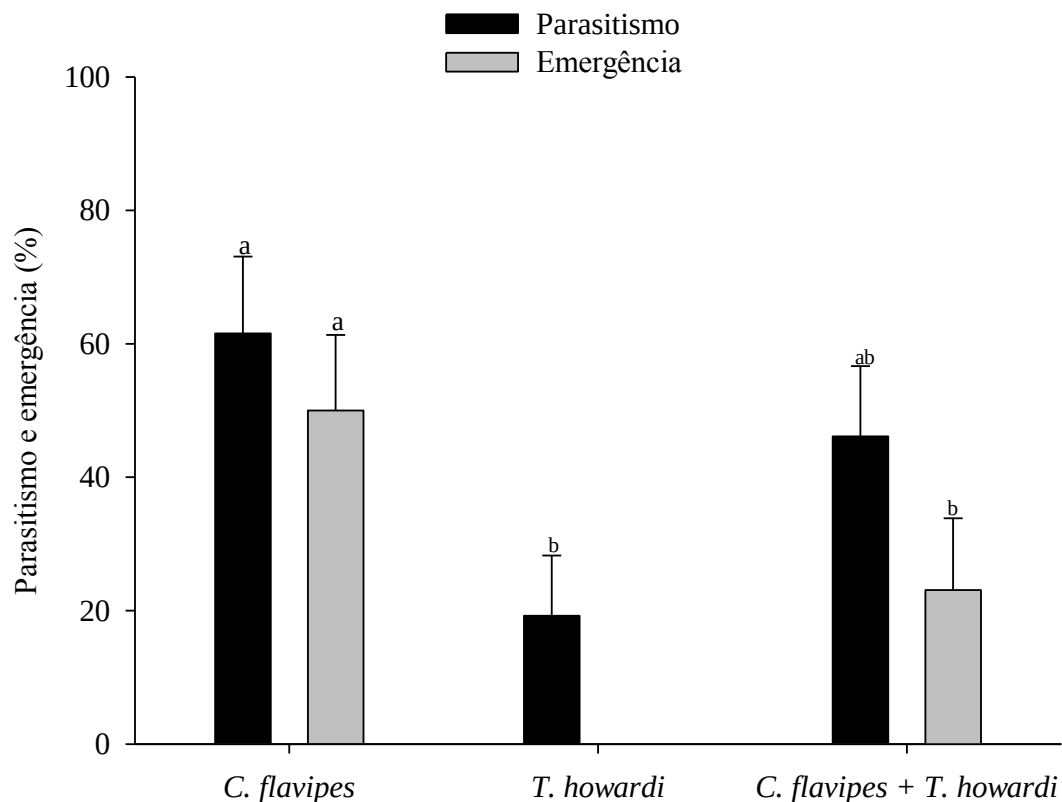
1 Tabela 1. Características biológicas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) e *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) em  
 2 lagartas de terceiro ínstar de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) introduzidas em internódios de cana-de-açúcar em laboratório a 25  
 3  $\pm 1^\circ\text{C}$ , 70  $\pm$  10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas.

| Características biológicas                                 | <i>C. flavipes</i> (n) | <i>T. howardi</i> (n) | <i>C. flavipes</i> + <i>T. howardi</i> (n) |
|------------------------------------------------------------|------------------------|-----------------------|--------------------------------------------|
| Número de lagartas parasitadas                             | 200 a                  | 134 b                 | 198 a                                      |
| Porcentagem de lagartas parasitadas                        | 100%                   | 67%                   | 99%                                        |
| Número de lagartas com emergência de parasitoides          | -                      | 1                     | -                                          |
| Número de pupas com emergência de parasitoides             | -                      | 31                    | -                                          |
| Duração do ciclo de vida (dias) com emergência em lagartas | -                      | 17,00 $\pm$ 0,00      | -                                          |
| Progenie                                                   | -                      | 139,00 $\pm$ 0,00     | -                                          |
| Razão sexual                                               | -                      | 0,70 $\pm$ 0,00       | -                                          |
| Duração do ciclo de vida (dias) com emergência em pupas    | -                      | 17,65 $\pm$ 0,15      | -                                          |
| Progenie                                                   | -                      | 164,19 $\pm$ 8,19     | -                                          |
| Razão sexual                                               | -                      | 0,63 $\pm$ 0,03       | -                                          |

Médias seguidas pela mesma letra na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

(n) cada tratamento é composto por dez repetições sendo cada uma composta por 20 lagartas de *D. saccharalis*, totalizando 200 lagartas por tratamento

- não houve dados para a condução das análises



1  
2

3 Figura 2. Parasitismo e emergência de *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) e  
 4 *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em lagartas de terceiro ínstar de  
 5 *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) introduzida em internódios de cana-de-  
 6 açúcar em campo (parasitismo F= 5,417; P= 0,0114) (emergência F= 9,779; P= 0,0000)  
 7 (\*Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível  
 8 de 5% de probabilidade).

9  
10  
11  
12  
13  
14  
15

1 Tabela 2. Características biológicas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) e *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) em  
 2 lagartas de terceiro ínstar de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) introduzidas em internódios de cana-de-açúcar em campo.

3

| Características biológicas                        | <i>C. flavipes</i> (n) | <i>T. howardi</i> (n) | <i>C. flavipes</i> + <i>T. howardi</i> (n) |
|---------------------------------------------------|------------------------|-----------------------|--------------------------------------------|
| Número de lagartas parasitadas                    | 16 a                   | 5 b                   | 12 ab                                      |
| Porcentagem de lagartas parasitadas               | 61,54%                 | 19,23%                | 46,15%                                     |
| Número de lagartas com emergência de parasitoides | 13                     | -                     | 6                                          |
| Duração do ciclo de vida (dias)                   | 19,82±1,55 a           | -                     | 20,33±1,65 a                               |
| Progenie                                          | 53,55±3,34 a           | -                     | 62,00±9,48 a                               |
| Razão sexual                                      | 0,74±0,05 a            | -                     | 0,75±0,12 a                                |

Médias seguidas pela mesma letra na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

(n) cada tratamento é composto por 13 repetições sendo cada uma composta por 2 lagartas de *D. saccharalis*, totalizando 26 lagartas por tratamento

- não houve dados para a condução das análises

4

## CONCLUSÕES GERAIS

Os parasitoides *T. howardi* e *C. flavipes* parasitaram lagartas de terceiro ínstar *D. saccharalis* em todas as combinações de densidades de fêmeas (uma e três) e períodos de parasitismo (0,016; 0,5; 1; 12; 24; 48; 72 e 96 horas), porém com variações.

A maior taxa de emergência da progênie de *T. howardi* foi proveniente do aumento do período de parasitismo.

O número de descendentes de *C. flavipes* por lagarta de terceiro ínstar de *D. saccharalis* decresceu com o aumento do período de parasitismo, o inverso foi observado para o parasitoide *T. howardi*.

Três fêmeas de *T. howardi* com 96 horas de parasitismo e três de *C. flavipes* com trinta minutos de parasitismo em lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis* foram as combinações mais apropriadas para multiplicação desses parasitoides por proporcionar o maior parasitismo, emergência e número de descendentes por fêmea parasitoide.

O parasitoide *T. howardi* parasitou e se desenvolveu em pupas de *D. saccharalis* em todas as combinações de densidades de fêmeas (uma, três e sete) e períodos de parasitismo (24, 48 e 72 horas).

A produção de descendentes de *T. howardi* foi proporcional ao aumento da densidade (uma, três e sete) de fêmeas parasitoides.

O número de fêmea produzida por fêmea de *T. howardi* por pupa de *D. saccharalis* foi inversamente proporcional com o aumento da densidade de fêmeas.

Sete fêmeas de *T. howardi* com 24 horas de parasitismo em pupas de *D. saccharalis* foi a combinação mais apropriada para multiplicação desse parasitoide por proporcionar a maior progênie, o maior número total de descendentes fêmeas produzidas por fêmea parasitoide e elevada razão sexual.

Os parasitoides *C. flavipes* e *T. howardi* localizaram e parasitaram lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis* em internódios de cana-de-açúcar em condições de laboratório e campo.

Atributos de *T. howardi* como sua maior longevidade, pode favorecer a sobrevivência desse inimigo natural no campo, aumentando as chances de localizar e parasitar o hospedeiro por um maior período, e consequentemente proporcionar o aumento da eficiência de parasitismo. A elevada razão sexual aliada à capacidade de



parasitar duas fases do hospedeiro (lagartas e pupas) e a facilidade de multiplicação em grandes quantidades são peculiaridades do parasitoide *T. howardi*, que o capacita e justificam a possibilidade de ser associado com *C. flavipes* em programas de controle biológico de *D. saccharalis*.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste trabalho incrementam o conhecimento sobre o desenvolvimento e reprodução de *T. howardi* e *C. flavipes* no hospedeiro *D. saccharalis*, visto que a técnica de multiplicação massal desse lepidóptero em laboratório já é conhecida. Contribui também para o aprimoramento da técnica de multiplicação de *T. howardi*, visando à obtenção desse parasitoide para a realização de estudos científicos ou para o estabelecimento de multiplicação massal, caso o mesmo venha a ser utilizado em programas de controle biológico.

Além de *C. flavipes*, o parasitoide *T. howardi* também é indicado para controle biológico de *D. saccharalis*, uma vez que possuem capacidade de localizar o hospedeiro, penetrar nas galerias produzidas nas plantas pelos mesmos e parasitá-los. Estudos visando determinar a quantidade de parasitoides a serem liberados por unidade de área ou em função da população da praga alvo e ajustes para o conhecimento da dispersão desses parasitoides com possíveis liberações em uma mesma área, mesmo em momentos diferentes devem ser realizados para se obter maior êxito em programas de controle biológico com *C. flavipes* e *T. howardi*.

|                                       |        | <br><i>Cotesia flavipes</i> |      | <br><i>Tetrastichus howardi</i> |      |
|---------------------------------------|--------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| Fases de exploração do hospedeiro     |        | Lagarta                                                                                                        | Pupa | Lagarta                                                                                                              | Pupa |
| Parasitismo                           | -----> | ↑                                                                                                              | —    | ↓                                                                                                                    | ↑    |
| Emergência                            | -----> | ↑                                                                                                              | —    | ↓                                                                                                                    | ↑    |
| Progênie                              | -----> | ↑                                                                                                              | —    | ↓                                                                                                                    | ↑    |
| Duração do ciclo de vida (ovo-adulto) |        | ↓                                                                                                              | —    | ↑                                                                                                                    | ↓    |
| Razão sexual                          | -----> | ↓                                                                                                              | —    | ↑                                                                                                                    | ↑    |
| Longevidade                           | -----> | ↓                                                                                                              | —    | ↑                                                                                                                    | ↑    |
| Multiplicação do parasitoide          | -----> | ↑                                                                                                              | —    | ↓                                                                                                                    | ↑    |

## ANEXO

ANEXO 1. Dieta artificial de alimentação modificada de Parra (2007) para a criação de lagartas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae).

| <b>Ingredientes</b> | <b>Quantidade*</b> | <b>Finalidade</b>  |
|---------------------|--------------------|--------------------|
| Farelo de soja      | 300 g              | Proteína           |
| Germe de trigo      | 150 g              | Proteína           |
| Levedura de cana    | 225 g              | Proteína           |
| Açúcar              | 205 g              | Carboidrato        |
| Nipagin             | 15 g               | Conservante        |
| Ácido ascórbico     | 8 g                | Vitamina           |
| Cloreto de colina   | 2 g                | Vitamina           |
| Sais de wesson      | 15 g               | Sais minerais      |
| Caragenato          | 65 g               | Espessante         |
| Vita gold           | 3 mL               | Solução vitamínica |
| Solução vitamínica  | 40 mL              | Solução vitamínica |
| Formol              | 6 mL               | Anticontaminante   |
| Tetraciclina        | 1 comprimido       | Anticontaminante   |
| Wintomylon          | 1 comprimido       | Anticontaminante   |
| Água destilada      | 3,8 L              | Solvente           |

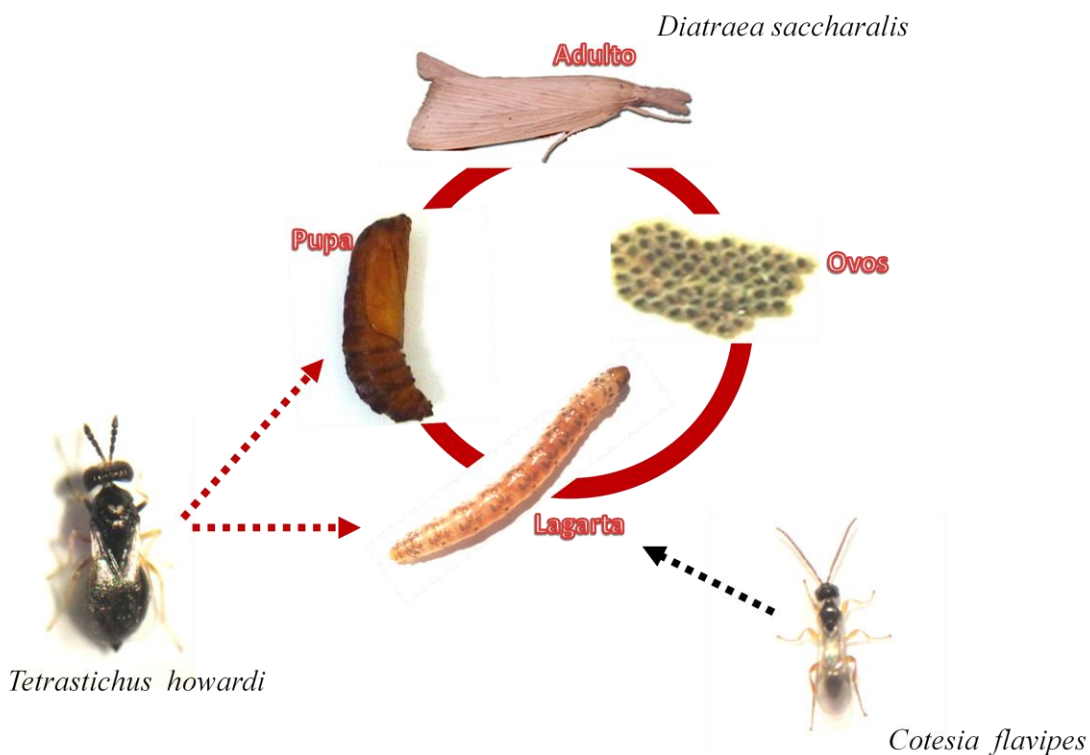
\* Quantidade de ingredientes para 12 frascos de vidro (capacidade de 500 mL)

ANEXO 2. Dieta artificial de realimentação modificada de Parra (2007) para a criação de lagartas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae).

| <b>Ingredientes</b> | <b>Quantidade*</b> | <b>Finalidade</b>  |
|---------------------|--------------------|--------------------|
| Farelo de soja      | 540 g              | Proteína           |
| Levedura de cana    | 400 g              | Proteína           |
| Açúcar              | 360 g              | Carboidrato        |
| Nipagin             | 40 g               | Conservante        |
| Ácido ascórbico     | 8 g                | Vitamina           |
| Cloreto de colina   | 8 g                | Vitamina           |
| Caragenato          | 150 g              | Espessante         |
| Vita gold           | 7 mL               | Solução vitamínica |
| Solução vitamínica  | 40 mL              | Solução vitamínica |
| Ácido acético       | 65 mL              | Anticontaminante   |
| Formol              | 14 mL              | Anticontaminante   |
| Tetraciclina        | 1 comprimido       | Anticontaminante   |
| Wintomylon          | 1 comprimido       | Anticontaminante   |
| Água destilada      | 6,4 L              | Solvente           |

\* Quantidade de ingredientes para 6 bandejas (capacidade de 1000 mL)

### ANEXO 3. Fases de exploração do hospedeiro *Diatraea saccharalis*.



### Multiplicação do Hopedeiro e parasitoides

