

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS**

**PARASITISMO DE *Tetrastichus howardi*  
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EM INSETOS ALVO E  
NÃO ALVO**

**IZABELLA DE LIMA PALOMBO**

Dourados  
Mato Grosso do Sul  
2021

**PARASITISMO DE *Tetrastichus howardi*  
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EM INSETOS ALVO E  
NÃO ALVO**

IZABELLA DE LIMA PALOMBO

Orientador: Prof. Dr. Fabricio Fagundes Pereira

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à Universidade Federal da  
Grande Dourados, como parte das  
exigências do Curso de Bacharelado em  
Biotecnologia.

Dourados  
Mato Grosso do Sul  
2021

**IZABELLA DE LIMA PALOMBO**

**PARASITISMO DE *Tetrastichus howardi*  
(HYMENOPTERA:EULOPHIDAE) EM INSETOS ALVO E  
NÃO ALVO**


Trabalho de Conclusão de Curso aprovado pela Banca Examinadora como requisito parcial para obtenção do título de Biotecnologia, da Universidade Federal da Grande Dourados.

Orientador: Prof. Dr. Fabricio Fagundes Pereira

Área de Concentração: Entomologia

Aprovado em: 18 de novembro de 2021

**BANCA EXAMINADORA**

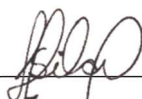


---

**DR. FABRÍCIO FAGUNDES PEREIRA**

Prof. Fabricio Fagundes Pereira  
SIAPE 2578629  
UFOD-FCBA

Presidente



---

**DRA. IVANA FERNANDES DA SILVA**

Membro



---

**DR. CARLOS REINIER GARCIA CARDOSO**

Membro



---

**DR. EDUARDO NEVES COSTA**

Membro

## RESUMO

*Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide gregário principalmente de pupas de Lepidoptera e Coleoptera com grande potencial no controle biológico de pragas. Os hospedeiros desses parasitoides são fisiologicamente adequados, sendo naturais ou alternativos. Avaliamos a preferência de *T. howardi* a pupas do inseto alvo *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) e não alvo *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) em condições de laboratório. No primeiro experimento fêmeas de *T. howardi* foram inseridas em uma arena do tipo copo coletor universal adaptado com quatro microtubos de eppendorf, com pupas individuais de *C. flavipes* e pupas de *D. saccharalis*. O mesmo procedimento foi utilizado no segundo experimento, porém foram utilizadas massas de pupas de *C. flavipes* com e sem chance de escolha. As fêmeas foram retiradas após 24 horas de parasitismo e as pupas, de ambas as espécies acondicionadas em tubos de vidro com uma gotícula de mel e vedados com algodão a  $25\pm 2$  °C,  $70\pm 10\%$  de umidade relativa (UR) e uma fotofase de 14h para observar a emergência do parasitoide. Não houve parasitismo de *T. howardi* em pupa de *C. flavipes* nas diferentes etapas experimentais. De maneira geral, o parasitismo, emergência, duração do ciclo de vida, progênie, razão sexual, longevidade de fêmeas de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis* sem chance de escolha, foram maiores quando comparadas a pupas de *C. flavipes*, sendo  $95,00\pm 1,05$  (%);  $80,00\pm 2,30$ (%);  $17,93\pm 0,03$  (dias);  $188,43\pm 8,54$  (indivíduos);  $0,80\pm 0,01$ ; 10,00 dias, respectivamente. Com base na metodologia utilizada e resultados obtidos, *T. howardi* prefere pupas de *D. saccharalis* e não parasita pupas do inseto não alvo *C. flavipes*.

**Palavras-chave:** Controle biológico; Inimigos naturais; Capacidade de preferência.

## RESUMEN

*Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) es un endoparásitoide gregario principalmente de pupas de Lepidóptera y Coleóptera con gran potencial en el control biológico de plagas. Los hospederos de esos parasitoides son fisiológicamente adecuados, siendo naturales o alternativos. Evaluamos la preferencia de *T. howardi* a pupas del insecto albo *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) y no albo *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) en condiciones de laboratorio. En el primer experimento hembras de *T. howardi* fueron introducidas en una arena tipo frasco colector universal adaptado con cuatro microtubos de eppendorf, con pupas individuales de *C. flavipes* y pupas de *D. saccharalis*. El mismo procedimiento fue utilizado en el segundo experimento, pero fueron utilizadas masas de pupas de *C. flavipes* con y sin oportunidad de selección. Las hembras fueron retiradas después de 24 horas de parasitismo y las pupas, de ambas especies acondicionadas en tubos de vidrio con una gota de miel y tapados con algodón a  $25\pm 2$  °C,  $70\pm 10\%$  de humedad relativa (UR) y una fotofase de 14h para observar la emergencia del parasitoide. No hubo parasitismo de *T. howardi* en pupa de *C. flavipes* en las diferentes etapas experimentales. De forma general, el parasitismo, la emergencia, la duración del ciclo de vida, la progenie, la razón sexual, la longevidad de hembras de *T. howardi* en pupas de *D. saccharalis* sin oportunidad de selección, fueron mayores cuando fueron comparadas a las pupas de *C. flavipes*, siendo  $95,00\pm 1,05$  (%);  $80,00\pm 2,30$  (%);  $17,93\pm 0,03$  (días);  $188,43\pm 8,54$  (individuos);  $0,80\pm 0,01$ ;  $10,00$  días, respectivamente. Con base en la metodología utilizada y los resultados obtenidos, *T. howardi* prefiere pupas de *D. saccharalis* y no parasita pupas del insecto no albo *C. flavipes*.

**Palabras-clave:** Control biológico; Enemigos naturales; Capacidad de preferencia.

## 1. INTRODUÇÃO

Controle biológico é a regulação de populações de organismos vivos por inimigos naturais (Embrapa, 2006), que podem ser insetos benéficos tais como predadores e parasitoides, denominados entomófagos. Os fungos, bactérias e vírus denominados como entomopatógenos (Costa *et al.*, 2006). O termo controle biológico foi usado pela primeira vez pelo pesquisador Harry S. Smith em 1919 para designar o uso dos inimigos naturais no controle de insetos-praga. (Huffaker e Wilson, 1976).

O marco do controle biológico foi em 1888 para controlar a praga *Icerya purchasi* (Hemiptera: Margarodidae) na Califórnia, utilizando o predador *Rodolia cardinalis* (Coleoptera: Coccinellidae) vindos da Austrália (Godfray e Waage, 1990). Até 1990, mais de 1500 espécies de parasitoides foram introduzidas no controle de insetos-praga com uma alta porcentagem de sucesso (Greathead, 1992), entre eles *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) e *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae).

A criação de parasitoides em laboratório iniciou-se a partir do aumento da utilização do programa de controle biológico, sendo necessário a substituição de seus hospedeiros naturais por alternativos (Milward-de-Azevedo *et al.*, 2004, Parra *et al.*, 2002, Pereira *et al.*, 2009, Pereira *et al.*, 2010a, Zanuncio *et al.*, 2008), no entanto, esse hospedeiro alternativo visa atender a necessidade de um hospedeiro que seja fisiologicamente adequado (Iwantsch e Vinson, 1980) de modo econômico e viável.

*Tetrastichus howardi* é um endoparasitoide gregário cuja presença tem sido registrada principalmente em pupas de Lepidoptera e Coleoptera. Este parasitoide foi introduzido na África do Sul, para o controle de *Chilo partellus* (Swinhoe, 1885) (Lepidoptera: Pyralidae) nas culturas do milho e do sorgo, e na África para o controle de *Busseola fusca* (Fuller, 1901) (Lepidoptera: Noctuidae) (Kfir *et al.*, 1993; Kfir, 1995; Kfir, 2001; Moore; Pessoa *et al.*, 2016; Rao *et al.*, 2001). Uma das peculiaridades de *T. howardi* é sua capacidade de parasitar diferentes fases de desenvolvimento do hospedeiro, como larvas, pré-pupa, pupas e até mesmo adultos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) (Fernandes, 2018 e Pereira *et al.*, 2015).

No Brasil, *T. howardi* foi coletado naturalmente em pupas de *D. saccharalis* no milho em Sete Lagoas, Minas Gerais (Cruz *et al.*, 2011). Posteriormente, foi coletada uma

pupa de *Diatraea* sp. parasitada por *T. howardi* em plantio de cana-de-açúcar, no município de Dourados, Mato Grosso do Sul (Vargas *et al.*, 2011). Inicialmente, este parasitoide foi nomeado como *Aprostocetus* sp. (Hymenoptera: Eulophidae), posteriormente foi reclassificado como *T. howardi* devido a presença de marcas características na sua morfologia (Álvarez *et al.*, 2007; González *et al.*, 2003; La Salle, 1994), sua característica de identificação é uma cerda dorsal e um “Y” invertido no primeiro segmento abdominal (Boucek, 1988; LaSalle e Schauff, 1992).

*Cotesia flavipes* é um endoparasitoide larval com hábito gregário, sendo eficiente no controle de inseto-praga da cana-de-açúcar *D. saccharalis* (Potting *et al.*, 1997a). Fêmeas de *C. flavipes* costumam localizar seus hospedeiros por estímulos olfativos, sendo estimulados por substâncias presentes nas fezes secas ou reidratadas das lagartas (Botelho e Macedo, 2002).

Em 1970, *C. flavipes* foi introduzido no Brasil para o controle biológico de populações da broca da cana-de-açúcar *D. saccharalis*, ao impedir que o inseto passe para fase adulta (Potting *et al.*, 1997). Biofábricas começaram a produzir os inimigos naturais em larga escala visando sua produção e liberação em lavouras de cana-de-açúcar (Parra, 2014; Vacari *et al.*, 2012). Atualmente, o controle da broca da cana-de-açúcar com *C. flavipes* constitui um dos maiores programas de controle biológico aplicado no mundo (Parra *et al.*, 2014; Santos *et al.*, 2015).

*Cotesia flavipes* e *T. howardi* são eficientes no controle de *D. saccharalis*, por parasitarem principalmente lagartas e pupas, respectivamente, sendo assim complementares (Pereira *et al.*, 2015). Porém, *C. flavipes* tem sido utilizada com mais frequência por sua preferência pelas lagartas, fase que causa injúrias significativas em cana-de-açúcar (Botelho e Macedo, 2002; Dinardo-Miranda, 2008; Pereira-Barros *et al.*, 2005). Novos trabalhos indicam uma possível associação entre estes parasitoides para potencializar o controle biológico de *D. saccharalis* (Costa, 2013). Há relatos na literatura que *T. howardi* pode atuar como hiperparasitoide (Kfir e Moore, 1993). Isto nos motivou a investigar se *T. howardi* consegue parasitar pupas de *C. flavipes*, assim como avaliar sua preferência com relação a pupa de seu hospedeiro natural *D. saccharalis*, após emergência em hospedeiro alternativo *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae).

## 2. OBJETIVOS

Avaliar a preferência parasítica de *T. howardi* a pupas de insetos alvo *D. saccharalis* e não alvo *C. flavipes* em condições de laboratório. Especificamente, comparar as características biológicas duração do ciclo de vida (ovo-adulto), a porcentagem de parasitismo e de emergência da progênie, o número de parasitoides emergidos por pupa, e a razão sexual de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis*, e em massas e pupas isoladas de *C. flavipes* com e sem chance de escolha em condições de laboratório.

## 3. METODOLOGIA

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Mato Grosso do Sul, Brasil.

### **Criação dos insetos para montagem dos experimentos:**

#### **Criação do hospedeiro natural *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)**

Ovos de *D. saccharalis* oriundos da criação massal do LECOBIOL foram colocados em frascos de vidro (8,5 cm de diâmetro e 13 cm de altura) com dieta artificial a base de germe de trigo, farelo de soja e levedura de cana para lagartas recém eclodidas até o quarto instar (Parra, 2007). Posteriormente, essas lagartas foram transferidas para placas de Petri descartáveis (6,5 cm de diâmetro e 2,5 cm de altura) contendo, uma porção de dieta de realimentação, até a formação das pupas. Essas pupas foram recolhidas e acondicionadas em potes plásticos (14 cm de diâmetro e 16,5 cm de altura) telados na parte superior da tampa até a fase adulta.

Os adultos obtidos foram separados na proporção de 20 machos e 30 fêmeas por gaiola confeccionadas por tubos de PVC (10 cm de diâmetro e 22 de altura), as quais foram fechadas com papel sulfite e elástico e revestidas internamente com folhas desse papel servindo como substrato para oviposição. As posturas de *D. saccharalis* foram coletadas diariamente, lavadas com solução de sulfato de cobre (0,02%) e armazenadas em câmara climatizada tipo B.O.D à temperatura de  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa de  $70\pm 10\%$  e fotofase de 12 horas. Como proposto por Parra (2007).



### **Criação do hospedeiro alternativo *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) para evitar o condicionamento pré-imaginal.**

A produção de *C. includens* procedeu-se após a aquisição de ovos fornecidos pela empresa Pragas.com. Após a eclosão das lagartas, estas foram divididas em copos plásticos (4,1 cm de diâmetro e 5 cm de altura) até atingirem o 3º instar larval com dieta artificial adaptada de (Greene *et al.*, 1976), até se transformarem em pupas. Posteriormente as pupas foram sexuadas e agrupadas em 75 fêmeas e 75 machos, em potes plásticos (14 cm de diâmetro e 16,5 cm de altura) com fundo forrado por papel toalha e vedado com tecido “voil”, por aproximadamente 6 dias.

No sétimo dia do estágio pupal, estas foram alocadas em gaiolas de tubos de PVC (25 cm de diâmetro por 30 cm de altura). O interior das gaiolas foi revestido com papel sulfite de cor rósea, e a parte superior vedada com tecido “voil” presa por gomas elásticas, sendo então sobrepostas em bandejas de plástico de cor verde claro (Barbosa *et al.*, 2018). Copos plásticos de 50 mL com um chumaço de algodão embebido em solução aquosa de mel a 10 %, foram introduzidos no interior das gaiolas de PVC, no qual serviram de alimento para os adultos após a emergência.

As gaiolas foram colocadas sobre estantes de aço sob iluminação artificial de duas lâmpadas fluorescentes dispostas paralelamente. As mariposas ovipositaram em folhas de papel sulfite e as posturas foram coletadas e acondicionadas em copos plásticos (4,1 cm de diâmetro e 5 cm de altura). As lagartas foram alimentadas com dieta artificial até se transformarem em pupas, reiniciando o ciclo de criação de *C. includens* (Barbosa *et al.*, 2018). A criação e manutenção de *C. includens* foi conduzida em sala climatizada com temperatura de  $25 \pm 2$  °C, umidade relativa (UR) de  $70 \pm 20\%$  e fotoperíodo de 14 horas.

### **Criação do parasitoide *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae)**

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 instar de *D. saccharalis* foram expostas ao parasitismo por fêmea de *C. flavipes* acasalada com 24 horas de emergência. à  $25 \pm 2$ °C, umidade relativa (UR) de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas em sala climatizada. As massas de pupas foram retiradas e transferidas para as gaiolas de inoculação para a emergência dos adultos parasitoides (Garcia *et al.*,2009).

## **Criação do parasitoide *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae)**

Populações de *T. howardi* foram mantidas separadamente em tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro × 8,5 cm de altura) vedados com algodão e alimentados com gotículas de mel puro. Para manutenção da criação destes parasitoides, pupas de *C. includens* de 24 a 48 horas de idade foram expostas às fêmeas dos parasitoides. As pupas parasitadas foram individualizadas em tubos de vidro e mantidas em câmara climatizada a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 horas, até a emergência de adultos conforme metodologia utilizada para criação deste parasitoide em pupas de *D. saccharalis* (Vargas *et al.*, 2011; Chichera *et al.*, 2012).

## **Desenvolvimento experimental**

### **Experimento com chance de escolha**

Arenas foram montadas a partir de copos plásticos do tipo coletor universal (50 mm de diâmetro e 55 mm de altura) adaptada com cinco microtubos de eppendorf, quatro foram dispostos equidistante na parte inferior e um disposto na parte superior da tampa (Thuler *et al.*, 2007). Na primeira etapa experimental, com chance de escolha, quinze repetições foram montadas, cada uma continha quatro fêmeas de *T. howardi* de 24 horas de idade emergidos do hospedeiro alternativo *C. includens*, duas pupas de *D. saccharalis* (191,10 mg) com 24 horas e duas pupas de *C. flavipes* (0,001 mg) com 48 horas, dispostas individualmente nas quatros extremidades dos microtubos e fixadas com goma arábica.

Na segunda etapa experimental, quinze repetições foram montadas, onde cada uma continha quatro fêmeas de *T. howardi* de 24 horas de idade emergidos do hospedeiro alternativo *C. includens*, duas pupas de *D. saccharalis* (169,97 mg) com 24 horas de idade e duas massas de *C. flavipes* ( $\pm 0,061$  mg) com 48 horas.

Nas duas etapas, as pupas foram expostas ao parasitismo por fêmeas adultas de *T. howardi*, liberadas pelo microtubo superior da tampa durante de 24 horas e retiradas pelo mesmo microtubo com auxílio de um pincel. As pupas de cada tratamentos foram acondicionadas em tubos de vidro (10 × 1,5 cm) contendo uma gotícula de mel e fechados com algodão a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa (UR) e uma fotofase de 14h para observar a emergência do parasitoide.

## **Experimento sem chance de escolha**

Na primeira etapa experimental, sem chance de escolha, foram montadas dez repetições em copos do tipo coletor universal (50 mm de diâmetro e 55 mm de altura), utilizando quatro fêmeas de *T. howardi* de 24 horas de idade emergidos do hospedeiro alternativo *C. includens*, uma pupa de *D. saccharalis* (173,65 mg) com 24 horas de idade e uma pupa individualizada de *C. flavipes* (0,001 mg) de 48 horas de idade. O mesmo procedimento foi realizado na segunda etapa, sem chance de escolha, com exceção da substituição da pupa individualizada de *C. flavipes* pela massa de pupas (0,061 mg). As pupas de ambos os tratamentos foram expostas ao parasitismo de *T. howardi* durante 24 horas e depois retiradas com auxílio de um pincel. Os copos foram acondicionados a  $25\pm 2$  °C,  $70\pm 10\%$  de umidade relativa (UR) e uma fotofase de 14h para observar a emergência do parasitoide.

### **Análise estatística**

O delineamento foi inteiramente casualizado com os tratamentos, com e sem chance de escolha entre as pupas de *D. saccharalis* e *C. flavipes*. Em arenas com quize repetições, contendo duas pupas de cada hospedeiros e quatro fêmeas de *T. howardi* com a chance de escolha. O experimento sem chance de escolha, teve dez repetições para cada hospedeiro, cada repetição continha 4 subrepetição, com quatro fêmeas de *T. howardi* e uma pupa de cada hospedeiro, outras dez repetições foram montadas como testemunha, contendo apenas um hospedeiros de cada espécie para avaliar a capacidade de emergência dos adultos. As características avaliadas foram o número de pupas parasitadas, a porcentagem de parasitismo e a preferência em cada hospedeiro com ou sem chance de escolha.

## **4. RESULTADOS**

O parasitoide *T. howardi*, com chance de escolha, preferiu parasitar e se desenvolver em pupas de *D. saccharalis*, apresentando os valores de parasitismo  $53,33\pm 3,63$  (%), emergência de  $73,33\pm 4,16$  (%), duração do ciclo de vida de  $19,73\pm 1,13$  (dias), progênie de  $39,90\pm 2,89$  (indivíduos), razão sexual de  $0,97\pm 0,002$ , longevidade de fêmeas de  $22,50\pm 0,20$  (dias) e de machos de  $21,6\pm 0,46$  (dias). Enquanto as pupas de *C. flavipes* não foram parasitadas por fêmeas de *T. howardi* (Tabela 1).

No teste sem chance de escolha, *T. howardi* parasitou e se desenvolveu em pupas de *D. saccharalis* com valores de parasitismo  $87,50\pm 1,77$  (%), emergência de  $95,00\pm 1,05$

(%), duração do ciclo de vida de  $20,14 \pm 0,09$  (dias), progênie de  $341,50 \pm 7,63$  (indivíduos), razão sexual de  $0,85 \pm 0,01$ , longevidade de fêmeas de  $22,50 \pm 0,20$  (dias) e de machos de  $21,6 \pm 0,46$  (dias). Da mesma forma, pupas de *C. flavipes* não foram parasitadas por fêmeas de *T. howardi* (Tabela 1).

No segundo experimento, com chance de escolha, *T. howardi* parasitou apenas pupas de *D. saccharalis*, com parasitismo de  $90,00 \pm 1,38$  (%), emergência de  $100,00 \pm 0,00$  (%), duração do ciclo de vida de  $18,10 \pm 0,04$  (dias), progênie de  $297,93 \pm 3,65$  (indivíduos), razão sexual de  $0,94 \pm 0,002$ , longevidade de fêmeas de  $9,90 \pm 0,15$  (dias) e de machos de  $10,01 \pm 0,26$  (dias). Novamente pupas de *C. flavipes* não foram parasitadas por fêmeas de *T. howardi* (Tabela 2).

No teste sem chance de escolha, *T. howardi* apresentou dados somente em pupas de *D. saccharalis*, com parasitismo de  $95,00 \pm 1,05$  (%), emergência de  $80,00 \pm 2,30$  (%), duração do ciclo de vida de  $17,93 \pm 0,03$  (dias), progênie de  $188,43 \pm 8,54$  (indivíduos), razão sexual de  $0,80 \pm 0,01$ , longevidade de fêmeas de  $9,90 \pm 0,15$  (dias) e de machos  $10,01 \pm 0,26$  (dias) (Tabela 2).

## 5. DISCUSSÃO

Fêmeas adultas de *T. howardi* preferiram parasitar pupas de seu hospedeiro natural, *D. saccharalis* e não parasitaram pupas ou massas de pupas do parasitoide *C. flavipes*. Existem relatos na literatura considerando *T. howardi* como hiperparasitoide facultativo e esta é uma questão que deve ser levada em consideração ao se utilizar este parasitoide em programas de controle biológico (Kfir e Moore, 1993). No entanto, esse comportamento não foi observado diante nossos resultados.

Ao empregar *T. howardi* em programas manejo, vale destacar que existem vantagens e desvantagens na utilização de insetos como agente de controle biológico de pragas. Um ciclo de vida curto, alta fecundidade e longevidade de adultos, elevada proporção de fêmeas em relação a machos, e a facilidade de criação em grandes quantidades em laboratório são pontos favoráveis. Enquanto as desvantagens são sua natureza polífaga e sua incapacidade de parasitar e procriar em fases de larvas jovens que são prejudiciais para as plantas cultivadas (Cherian e Subramaniam, 1940; Rudriah & Sastry, 1959). Porém, a capacidade de gerar uma progênie de 100 indivíduos por pupa hospedeira com mais de 90% de predominância de fêmeas caracteriza *T. howardi* como um importante agente de controle biológico de pragas (Pereira *et al.*, 2015).

No Brasil, sua natureza polífaga foi registrada por diversos autores em condições de laboratório e de campo em mais de 13 hospedeiros da ordem Lepidoptera (Pereira *et al.*, 2021). A capacidade hiperparasítica de *T. howardi* também foi observada apenas em condições de laboratório após sua introdução da Índia em Trinidad para o controle biológico de *Diatraea* spp. na cana-de-açúcar. Fêmeas adultas de *T. howardi* parasitou pupas de brocas, mas também pupários de taquinídeos, *Lixophaga diatraeae* (Townsend, 1916) (Diptera, Tachinidae) e *Paratheresia claripalpis* (Wulp, 1896) atualmente *Billaea claripalpis* (Bennett, 1965) (Diptera: Tachinidae).

Um parasitoide secundário facultativo pode parasitar o parasitoide primário ou o hospedeiro não parasitado (Ehler, 1979). Esta definição se encaixa em *T. howardi*, que se desenvolve como um principal parasitoide em pupas não parasitadas de hospedeiros lepidópteros, bem como em himenópteros ou parasitoides da ordem Diptera. Muitos insetos hospedeiros reagem contra ovos ou larvas de parasitoides encapsulando-o e matando-os (Schmid-Hempel, 2005). Por isto, quanto maior a distância taxonômica e fisiológica entre o parasitoide e o hospedeiro, mais forte é a defesa imunológica hospedeira (Brues, 1921).

Levando em consideração essas vantagens, liberações inundativas de *T. howardi* em plantios de cana-de-açúcar tem sido feita em Cuba, resultando em uma redução da infestação em até 84,6% (González *et al.*, 2008). Além disso, esse parasitoide foi compatível com outros agentes de controle biológico utilizados na cultura da cana-de-açúcar (Félix *et al.*, 2005). Laboratórios cubanos produzem *T. howardi* em escala comercial e recomendam sua utilização na supressão de brocas-do-colmo em cana-de-açúcar, milho, cevada e outras Poaceae (Pereira *et al.*, 2021).

Embora *T. howardi* tenha preferência por *D. saccharalis* e não parasite *C. flavipes*, recomenda-se que esse parasitoide seja liberado em momento diferente de *C. flavipes* para se evitar qualquer tipo de competição interespecífica (Costa, 2013). Estudos visando aprimorar o conhecimento da dispersão desses parasitoides com liberação em uma mesma área, mesmo em momentos diferentes devem ser realizados, pois ainda não sabemos o que acontecerá em situações de campo.

## 6. CONCLUSÃO

Com base na metodologia utilizada e resultados obtidos, *T. howardi* prefere pupas de *D. saccharalis* e não parasita pupas do inseto não alvo *C. flavipes*.

## 7. AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de produtividade ao orientador (processo 304055/2019-0). À Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul pelo apoio. A Associação Sul-Mato-Grossense de Produtores e Consumidores de Florestas Plantadas (Reflore MS), a JB Biotecnologia e ao Grupo Vittia pelos recursos financeiros.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, R. H.; PEREIRA, F. F.; MOTOMIYA, A. V. A.; KASSAB, S. O.; ROSSONI, C.; TORRES, J. B.; MUSSURY, R. M.; PASTORI, P. L. *Tetrastichus howardi* density and dispersal toward augmentation biological control of sugarcane borer. *Entomologia Neotropical*, v. 48, p. 323-331, 2019. DOI: 10.1007 / s13744-018-0646-z.

BARBOSA, R. H.; ZANUNCIO, J. C.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; ROSSONI, C. Foraging activity of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) at various densities on pupae of the eucalyptus defoliator *Thyrintea arnobia* (Lepidoptera: Geometridae). *Florida Entomologist*, n. 99 p. 686-690, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1653/024.099.0417>.

COSTA, D. P.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; ROSSONI, C.; FAVERO, K.; BARBOSA, R. H. Reprodução de *Tetrastichus howardi* em pupas de *Diatraea saccharalis* de diferentes idades. *Revista de Ciências Agrárias*, v. 57, n. 1, p. 67-71, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.4322/rca.2013.067>.

COSTA, D. P.; PEREIRA, F. F.; PASTORI, P. L. Interações biológicas entre *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) e *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) no parasitismo de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. Tese (Doutorado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) - Universidade Federal da Grande Dourados. Disponível em: <https://portal.ufgd.edu.br/pos-graduacao/mestrado-doutorado-agronomia/teses-defendidas>.

COSTA, D. P.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; ROSSONI, C.; PASTORI, P. L.; ZANUNCIO, J. C. *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) in different densities and periods of parasitism on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) caterpillars. *Annals of the Entomological Society of America*, v. 107 p. 961-966, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1603/AN14014>.

CRUZ, I.; REDOAN, A. C.; SILVA, R. B. D.; FIGUEIREDO, M. D. 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, n. 2, p. 252-254, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-90162011000200017>.

FÁVERO, K. Desempenho biológico de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) multiplicado em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) sob diferentes temperaturas. Tese (Doutorado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2013. Disponível em: [http://files.ufgd.edu.br/arquivos/arquivos/78/MESTRADO-DOUTORADO-ENTOMOLOGIA/Tese%20\(2013\)%20Kellen%20Favero\(1\).pdf](http://files.ufgd.edu.br/arquivos/arquivos/78/MESTRADO-DOUTORADO-ENTOMOLOGIA/Tese%20(2013)%20Kellen%20Favero(1).pdf).

FÁVERO, O. K.; PEREIRA, F. F.; TORRES, J. B.; OLIVEIRA, H. N.; KASSAB, S. O.; ZANUNCIO, J. C. Reproduction of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) in *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) pupae at diferente temperatures. Florida Entomologist, v. 98, n. 3, p. 865-869, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1653/024.098.0308>.

FERNANDEZ, W. C. Desempenho biológico de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em lagartas, pupas e pré-pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae) em condições de laboratório e semi-campo. Tese (Doutorado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2018. Disponível em: <http://repositorio.ufgd.edu.br/jspui/bitstream/prefix/498/1/WinnieCezarioFernandes.pdf>.

GLAESER, D. F.; PEREIRA, F. F.; VARGAS, E. L.; CALADO, V. R. F.; FAVERO, K. Reprodução de *Trichospilus diatraeae* em *Diatraea saccharalis* após três gerações em *Tenebrio molitor*. Pesquisa Agropecuária Tropical, v. 44, p. 213-218, 2014. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S1983-40632014000200013>.

GONZÁLEZ, J. F. A.; OCA, F. N. M.; RAVERO, H. G. Estudios bioecológicos de *Tetrastichus howardi* Olliff. (Hymenoptera: Eulophidae), parásito pupal de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) en Cuba. (Primera parte). Centro Agrícola, v. 30, n. 2, p. 37-41, 2003. Disponível em: <http://cagricola.uclv.edu.cu/index.php/es/volumen-30-2003/numero-2-2003/912-estudios-bioecologicos-de-tetrastichus-howardi-olliff-hymenoptera-eulophidae-parasito-pupal-de-diatraea-saccharalis-fabr-lepidoptera-crambidae-en-cuba-primera-parte>.

KFIR, R. J.; MOORE, G. S. D. Biology of *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae): A facultative Hyperparasitoid of stem borers. Biocontrol Science and Technology, v. 3, p. 149-159, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1080/09583159309355271>.

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, n. 159-169, 2011. DOI: [10.1016/j.biocontrol.2010.10.005](https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2010.10.005).

PARRA, J. R. P. Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores. São Paulo: Manole, 2002.

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

PEÑA, A. O.; BARCELÓ, A. M.; SALIDO, I. G. Algunos aspectos etológicos y efectividad de *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae), en el control de *Diatraea saccharalis* (Fab.) (Lepidoptera: Pyralidae) en áreas forrajeras de la Empresa Azucarera Majibacoa. Disponível em: <https://biblioteca.ihatuey.cu/link/tesis/tesism/anayzaochoa.pdf>.

PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; CALADO, V. R. F.; VARGAS, E. L.; OLIVEIRA, H. N.; ZANUNCIO, J. C. Parasitism and emergence of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) larvae, pupae and adults. *The Florida Entomologist*, v. 98, n. 1, p. 377-380, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1653/024.098.0164>.

SOUZA, J. R.; JÚNIOR, A. L. B.; PERECIN, D.; COSTA, J. T.; PEIXOTO, M. L. Preferência de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) por lagartas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) alimentadas com diferentes cultivares de cana-de-açúcar. *Revista Ceres*. v. 61, n. 6. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/0034-737X201461060005>.

THULER, R.T.; VOLPE, H. X. L.; BORTOLI, S. A.; GOULART, R. M.; VIANA, C. L. T. P. Metodologia para Avaliação da Preferência Hospedeira de Parasitóides do Gênero *Trichogramma* Westood. *ResearchGate*. 2007. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/28282977\\_Metodologia\\_para\\_Avaliacao\\_da\\_Preferencia\\_Hospedeira\\_de\\_Parasitoides\\_do\\_Genero\\_Trichogramma\\_Westood](https://www.researchgate.net/publication/28282977_Metodologia_para_Avaliacao_da_Preferencia_Hospedeira_de_Parasitoides_do_Genero_Trichogramma_Westood).

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, n. 3, p. 143-146, 2011. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/289748009\\_Record\\_of\\_Tetrastichus\\_howardi\\_Hymenoptera\\_Eulophidae\\_parasitizing\\_Diatraea\\_sp\\_Lepidoptera\\_Crambidae\\_in\\_sugarcane\\_crop\\_in\\_Brazil](https://www.researchgate.net/publication/289748009_Record_of_Tetrastichus_howardi_Hymenoptera_Eulophidae_parasitizing_Diatraea_sp_Lepidoptera_Crambidae_in_sugarcane_crop_in_Brazil).



Tabela 01. Características biológicas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupa de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) e pupa isolada de *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) com e sem chance de escolha. Dourados, Mato Grosso do Sul, 2021.

Experimento 1	Hospedeiro	Parasitismo (%)	Emergência (%)	Duração do ciclo de vida (dias)	Progênie (indivíduos)	Razão sexual	Longevidade (dias)	
							(♀)	(♂)
Com chance	<i>D. saccharalis</i>	53,33 ± 3,63	73,33 ± 4,16	19,73 ± 1,13	39,90 ± 2,89	0,97 ± 0,002	22,50 ± 0,20	21,6 ± 0,46
Sem chance	<i>D. saccharalis</i>	87,50 ± 1,77	95,00 ± 1,05	20,14 ± 0,09	341,50 ± 7,63	0,85 ± 0,01	22,50 ± 0,20	21,6 ± 0,46
Com e sem chance	<i>C. flavipes</i>	*	*	*	*	*	*	*

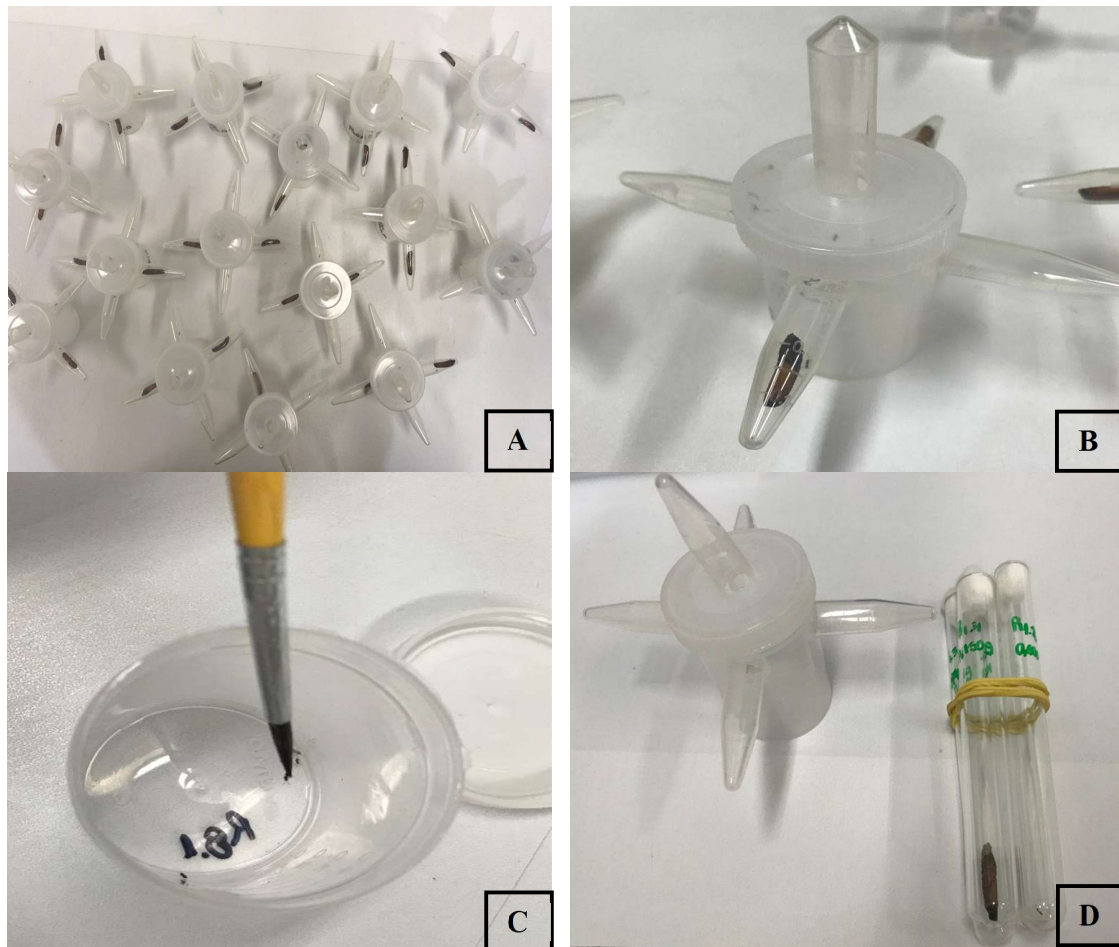
\*=Não parasitou, portanto sem dados para análises.

Tabela 02. Características biológicas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupa de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) e conjunto de pupas (massas) de *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) com e sem chance de escolha. Dourados, Mato Grosso do Sul, 2021.

Experimento 2	Hospedeiro	Parasitismo (%)	Emergência (%)	Duração do ciclo de vida (dias)	Progênie (indivíduos)	Razão sexual	Longevidade (dias)	
							(♀)	(♂)
Com chance	<i>D. saccharalis</i>	90,00 ± 1,38	100,00 ± 0,00	18,10 ± 0,04	297,93 ± 3,65	0,94 ± 0,002	9,90 ± 0,15	10,01 ± 0,26
Sem chance	<i>D. saccharalis</i>	95,00 ± 1,05	80,00 ± 2,30	17,93 ± 0,03	188,43 ± 8,54	0,80 ± 0,01	9,90 ± 0,15	10,01 ± 0,26
Com e sem chance	<i>C. flavipes</i>	*	*	*	*	*	*	*

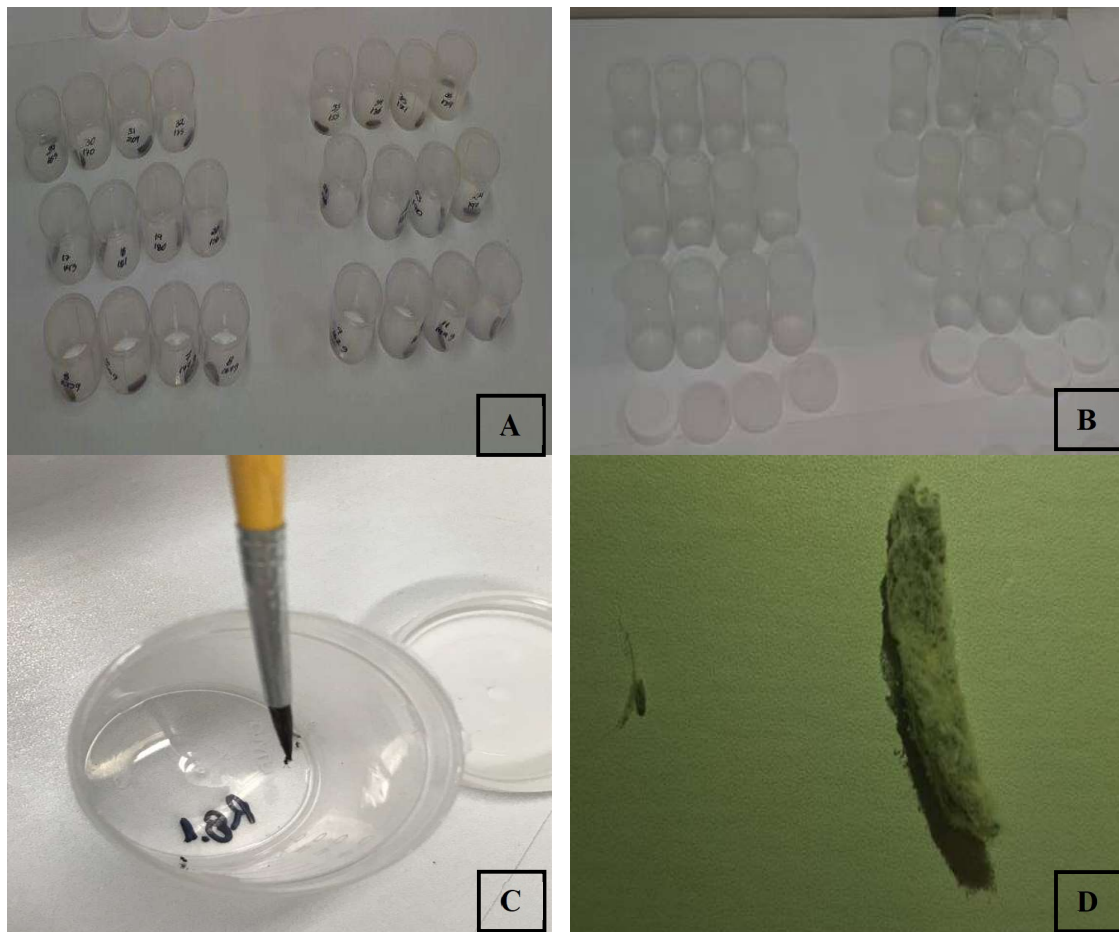
\*=Não parasitou, portanto sem dados para análises.

## 9. ANEXOS



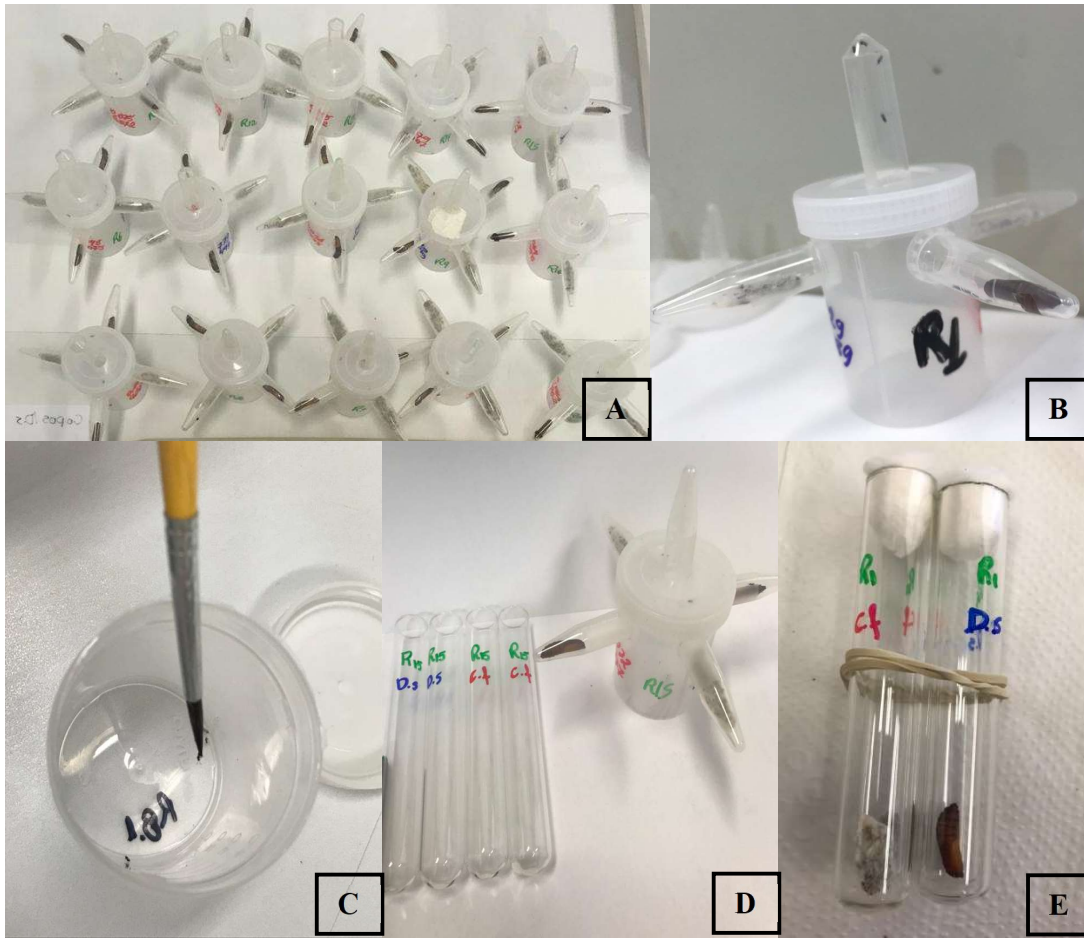
**Anexo 1:** Primeira etapa experimental com chance de escolha.

**A e B** - Quinze arenas adaptadas de copos plásticos do tipo coletor universal (50 mm de diâmetro e 55 mm de altura), com cinco microtubos de eppendorf, quatro dispostos equidistantemente na parte inferior e um na parte superior da tampa (Thuler *et al.*, 2007), duas pupas de *D. saccharalis* e duas pupas isoladas de *C. flavipes* colocadas nas extremidades dos microtubos. As pupas foram expostas ao parasitismo por fêmeas de *T. howardi*, liberadas através do microtubo superior da tampa. **C** - Após 24 horas de parasitismo as fêmeas de *T. howardi* foram retiradas com auxílio de um pincel. **D** - As pupas foram transferidas para tubos de ensaio (10 × 1,5 cm) e individualizadas para melhor análise de dados.



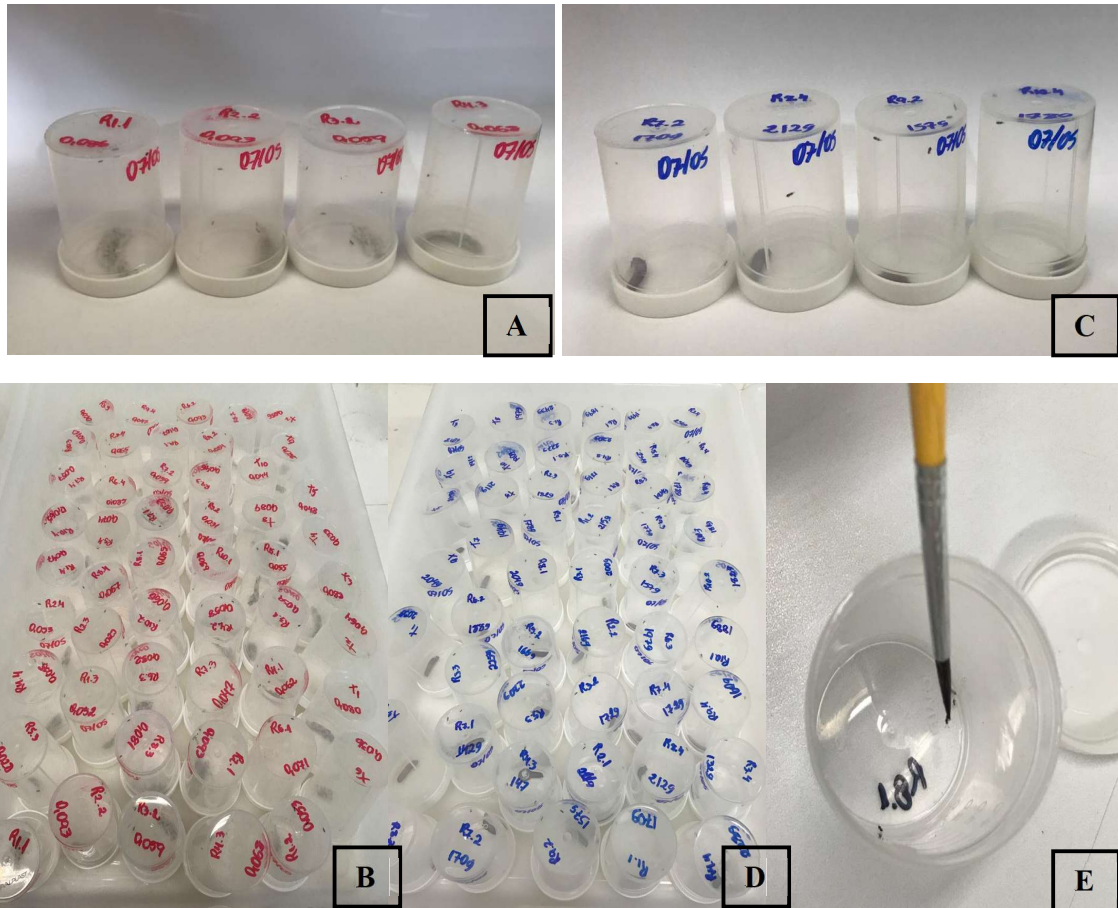
**Anexo 2:** Primeira etapa experimental sem chance de escolha.

**A** – Dez repetições em copos plásticos do tipo coletor universal (50 mm de diâmetro e 55 mm de altura) com quatro subrepetições foram montadas, utilizando quatro fêmeas de *T. howardi* com uma pupa de *D. saccharalis*. **B** – O mesmo procedimento foi realizado com pupas individualizadas de *C. flavipes*, mais quatro fêmeas de *T. howardi*. **C** - Após 24 horas de parasitismo as fêmeas de *T. howardi* foram retiradas com auxílio de um pincel. **D** - Pupa de *C. flavipes* individualizada da massa.



**Anexo 3:** Segunda etapa experimental com chance de escolha.

**A e B** - Quinze arenas adaptadas com copos plásticos do tipo coletor universal (50 mm de diâmetro e 55 mm de altura), com cinco microtubos de eppendorf, quatro dispostos equidistantemente na parte inferior e um disposto na parte superior da tampa (Thuler *et al.*, 2007), duas pupas de *D. saccharalis* e duas massas de pupas de *C. flavipes*, foram expostas ao parasitismo por quatro fêmeas de *T. howardi*, liberadas pelo microtubo superior da tampa. **C** - Após 24 horas de parasitismo as fêmeas de *T. howardi* foram retiradas com auxílio de um pinçel. **D e E** - As pupas foram transferidas para tubos de ensaio de vidro (10 × 1,5 cm) e individualizadas para melhor análise de dados.



**Anexo 4:** Segunda etapa experimental sem chance de escolha

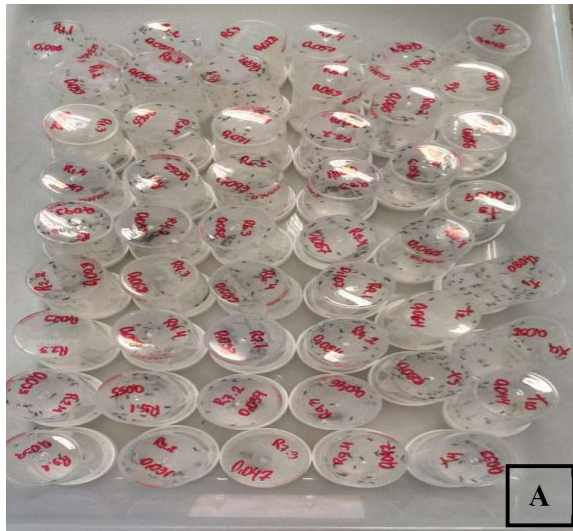
**A e B** – Dez repetições em copos plásticos do tipo coletor universal (50 mm de diâmetro e 55 mm de altura) com massas de *C. flavipes* e quatro fêmeas de *T. howardi*. Dez repetições em copos do tipo coletor universal com uma pupa de *D. saccharalis* e quatro fêmeas de *T. howardi*. **C e D** - Cada repetições foi subdividida em quatro. **E** - Após 24 horas de parasitismo as fêmeas de *T. howardi* foram retiradas com auxílio de um pincel.





**Anexo 5:** Pupas de *D. saccharalis* e *C. flavipes*.

**A** – Pupa de *D. saccharalis* sendo parasitada por uma fêmea de *T. howardi*. **B** – Massas de *C. flavipes* com uma fêmea de *T. howardi*.



**Anexo 6:** Emergência dos adultos de *C. flavipes*, resultando em uma progênie total de 4.563 indivíduos.

**A, B e C** – Emergência dos adultos de *C. flavipes* das massas de pupas, resultando no melhor teste entre as pupas individualizadas e as massas. **D** – Contagem dos adultos emergidos.