Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais - FCBA
Programa de Pós-Graduação em
Entomologia e Conservação da Biodiversidade - PPGECB

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

Winnie Cezario Fernandes

Dourados-MS
Dezembro de 2018

Universidade Federal da Grande Dourados
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais
Programa de Pós-Graduação em
Entomologia e Conservação da Biodiversidade

Winnie Cezario Fernandes

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 apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de DOUTORA EM ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE.

Área de Concentração: Biodiversidade e Conservação.

Orientador: Dr. Fabricio Fagundes Pereira

Co-orientador: Dr. Patrik Luiz Pastori

Dourados-MS
Dezembro de 2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

F363d Fernandes, Winnie Cezario

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 [recurso eletrônico] / Winnie Cezario Fernandes. -- 2019.

Arquivo em formato pdf.

Orientador: Fabricio Fagundes Pereira.

Coorientador: Patrik Luiz Pastori.

Tese (Doutorado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2018.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em: https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio

1. Controle biológico. 2. Eulophidae. 3. densidade de parasitoides. 4. desempenho reprodutivo. 5. multiplicação massal. I. Pereira, Fabricio Fagundes. II. Pastori, Patrik Luiz. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

"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."

Por

WINNIE CEZARIO FERNANDES

Tese apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de DOUTORA EM ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE
Área de Concentração: Biodiversidade e Conservação

Dr. Fabricio Fagundes Pereira
Orientador/Presidente - UFGD

Dr. Samir Oliveira Kassab
Membro Titular - Legado Pesquisa e Consultoria Agronômica Ltda

Dr. Crébio José Ávila
Membro Titular - Embrapa

Dr. Gilberto Santos Andrade
Membro Titular - UTFPR

Dr.ª Cácia Leila Tigre Pereira Viana
Membro Titular - Unigran

Aprovada em: 07 de dezembro de 2018.

BIOGRAFIA

WINNIE CEZARIO FERNANDES, filha de Odelia Cezario Peixoto e Pedro Fernandes Correa, natural de Crato, Estado do Ceará, Brasil, nascida em 14 de Setembro de 1990.

Cursou o ensino fundamental e ensino médio no Colégio Maria Ester II, na cidade de Fortaleza, finalizando em 2007. Em 2008, ingressou no curso de Agronomia (Bacharelado) na Universidade Federal do Ceará (UFC), em Fortaleza, Ceará, Brasil. Participou como bolsista do Programa de Educação Tutorial (PET - Agronomia) desde o segundo semestre de graduação até o último ano de formação, onde teve os primeiros contatos científicos com a entomologia agrícola. Recebeu o título de Engenheira Agrônoma em 2012.

Em Fevereiro de 2013, iniciou o Curso de Mestrado em Agronomia/Fitotecnia, no Programa de Pós-graduação da Universidade Federal do Ceará (UFC), defendendo sua dissertação com ênfase em Entomologia em Fevereiro de 2015. Determinada em busca de mais conhecimentos, mudou-se para o Mato Grosso do Sul em Março de 2015, iniciando o Curso de Doutorado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade pela Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), submetendo-se a defesa de sua Tese em Dezembro de 2018.

AGRADECIMENTOS

Durante estes três últimos anos muitas pessoas participaram de diferentes formas na minha vida. Algumas se tornaram muito especiais, cada uma com seu jeito particular, seja no meio acadêmico ou pessoalmente; e seria difícil não mencioná-las e agradecer a cada uma por todos os momentos compartilhados, por mais breve que tenham sido com certeza foram inesquecíveis.

Inicio agradecendo ao Grande Arquiteto do Universo, por me manter firme na jornada da vida e por tudo que superei para chegar até aqui, mantendo a fé em dias melhores. Agradeço pelos caminhos muitas vezes tortuosos, porém repleto de pessoas iluminadas.

A Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) e ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade pela oportunidade concedida para realização do Doutorado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo suporte financeiro com a concessão da bolsa de estudos e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro para conduzir as pequisas.

Ao Prof. Dr. Fabricio Fagundes Pereira pela orientação e ensinamentos entomológicos, por sua paciência, pela dedicação à pesquisa e entusiasmo na orientação dos experimentos. Agradeço imensamente por me receber em Dourados e me conduzir para uma moradia tão iluminada, que contribuiu grandemente para o meu amadurecimento pessoal.

Ao Prof. Dr. Patrik Luiz Pastori, pela co-orientação, sugestões para melhoria desse trabalho e amizade. Aos professores participantes da banca examinadora, pelo tempo dedicado a leitura e sugestões dadas a esta pesquisa.

Ao Prof. Cláudio Rodrigo Nogueira, pelo apoio e por compartilhar o amor entomológico e científico.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, da Universidade Federal da Grande Dourados pelos ensinamentos transmitidos e pela contribuição ao longo da minha caminhada na ‘vida entomológica’.

Aos Secretários do Programa Marcelo Cardoso e Vítor Cunha Gomes Sfeir pela disponibilidade e suporte durante esses 3 anos e meio de curso.

A turma do Laboratório de Controle Biológico de Insetos – LECOBIOL, pelo companheirismo, conversas calorosas e principalmente pela amizade que vou levar por toda a minha vida. Aos que me auxiliaram durante a condução dos experimentos e no dia-a-dia do

laboratório com as criações: Lucas Martinho, Maria Carolina, Simone, Suelen, Sarah, Thâmila, Giovana e Fihama. Aos colegas Antônio, Gabriela, Jéssica, Débora, Rogério, Elison, William, Júlio César e Flávio pelos momentos ‘intensos’ vividos durante esses anos. Aos amigos entomológicos que vou levar para vida: Eduardo, Augusto, Camila e Samir e Helter a quem compartilho imensa gratidão e por todo companheirismo e ajuda desde os primeiros passos no Doutorado.

A todos os demais profissionais que me deram suporte técnico e logístico necessário para a realização do meu trabalho, em especial ao Samir Kassab que disponibilizou as sementes utilizadas nos ensaios.

Aos amigos da turma de pós-graduação pelos momentos juntos, estudando ou dançando São João na praça, em especial Elizete Cavalcante e Eduardo Faca pela amizade linda que será preservada com muito carinho.

A minha família, que escolhi espiritualmente partilhar os momentos nessa encarnação, agradeço a paciência e o amor. Por todo o apoio emocional e incentivo para que eu não desistisse dessa batalha. Por serem exemplo de luta e perseverança. Pelos conselhos sábios que vou levar sempre comigo, por cada ligação e por toda preocupação. Aos meus pais pelas conversas descontraídas e por partilharem comigo o amor pela natureza. Aos meus irmãos (de sangue e de espírito), em especial a minha flor Taynná, por me ouvir sempre que precisei e por conseguir transformar todo momento negativo em sorrisos sinceros. Mesmo com toda a distância nos impedindo o colo e os abraços e os puxões de orelha, vocês estarão sempre presentes comigo. Obrigada pela sabedoria, ensinamentos, carinho, acolhimento, paciência e amor eterno.

Com muito amor agradeço ao meu querido Francisco Aldiel, que sempre foi minha fonte inspiradora para enfrentar todos os obstáculos e seguir em frente, por todo carinho e apoio durante toda minha formação acadêmica, com as fotos mais incríveis e todo suporte durante os trabalhos. Por compreender que nossa caminhada muitas vezes requer inúmeros desafios, por enfrentar as dificuldades que nos foram impostas, e por nunca desistir dos seus sonhos e da nossa história.

Aos amigos que levo comigo em meu coração, a distância não foi suficiente para nos separar, mesmo estando longe estamos sempre perto. Guardo com muita felicidade nossos momentos descontraídos. Meus queridos Danilo e Juliani (meus grudes), Gislaine, Vanessa, e todos os amigos que pude compartilhar bons momentos desde Dourados. Ao casal Bruno e Laura, agradeço pela amizade e pelo carinho de vocês, às viagens e momentos preciosos que passamos juntos.

A família Douradense, por serem muito mais que amigos, por todas as experiências inéditas vividas, as aulas de tecidos, cada sarau, cada concerto, cada evento, cada dança e cada passeio, pela presença marcada na feira do Parque Alvorada, por compartilharem muitos momentos positivos. Agradeço imensamente a cada um de vocês meus queridos, em especial aos que me acolheram na sua família: Arami e Jaciara, Graciela Chamorro e Walter Marschner.

A cada pessoa que passou pela minha vida nesses 3 anos e meio, que acompanham todos os desafios sempre com um abraço amigo ou palavra acolhedora, o meu mais profundo OBRIGADA! Pela paciência, amizade, companheirismo, sorrisos, lágrimas, medos e alegrias e acima de tudo AMOR!

“Não haverá borboletas se a vida não passar por longas e silenciosas metamorfoses.”

Rubem Alves

@samg013

Dedico

Aos meus amados pais,
Odelia Cezario Peixoto e Pedro Fernandes Correa, por
serem amor, calmaria e resistência.
Ao meu querido Francisco Aldiel,
pelo apoio e por ser fonte de força.
Aos meus professores,
aos que me incentivaram a seguir na batalha, pelos conselhos, por todo conhecimento compartilhado e por acreditarem e não desistirem de mim, mesmo quando eu não acreditei que conseguiria.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL 1
GENERAL ABSTRACT 2
1. INTRODUÇÃO GERAL 3
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 5
2.1 A cultura da Soja no Brasil 5
2.2 Lagarta-da-soja *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae) 7
2.3 Manejo integrado de pragas com parasitoides na sojicultora 10
2.4 Aspectos bioecológicos de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) 13
2.5 Criação massal com parasitoides 18
3. OBJETIVO GERAL 21
4. HIPÓTESES 21
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 22
Capítulo I: Parasitismo e desenvolvimento de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em lagartas de *Anticarsia gemmatalis* expostas a diferentes densidades do parasitoide 41
RESUMO 42
ABSTRACT 43
1. INTRODUÇÃO 44
2. MATERIAL E MÉTODOS 45
2.1 Multiplicação do hospedeiro *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae) 46
2.2 Criação do parasitoide *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) 46
2.3 Desenvolvimento experimental em laboratório 47
2.4 Desenvolvimento experimental no ensaio de semi-campo 48
3. RESULTADOS 50
3.1 Características biológicas de *T. howardi* em lagartas de *A. gemmatalis* em laboratório e semi-campo 50
4. DISCUSSÃO 52
5. CONCLUSÕES 65
REFERÊNCIAS 66
Capítulo II: Reprodução de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pré-pupas e pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae) expostas a diferentes densidades do parasitoide 83
RESUMO 84
ABSTRACT 85
1. INTRODUÇÃO 86

2. MATERIAL E MÉTODOS 88
2.1 Multiplicação do hospedeiro *Anticarsia gemmatalis* 88
2.2 Criação do parasitoide *Tetrastichus howardi* 88
2.3 Desenvolvimento experimental em laboratório 89
2.3.1 Bioensaio com pré-pupas 89
2.3.2 Bioensaio com pupas 90
2.4 Análise de dados 91
3. RESULTADOS 91
3.1 Características biológicas de *T. howardi* em pré-pupas de *A. gemmatalis* em laboratório 91
3.2 Características biológicas de *T. howardi* em pupas de *A. gemmatalis* em laboratório ... 93
4. DISCUSSÃO 94
5. CONCLUSÃO 104
REFERÊNCIAS 105
CONCLUSÕES GERAIS 127
CONSIDERAÇÕES FINAIS 128
ANEXOS 130

RESUMO GERAL

O endoparasitoide pupal e larval *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) de lepidópteros-praga possui potencial para ser utilizado em programas de controle biológico, e tem sido objeto de estudo como potencial agente a ser utilizado em programas de controle biológico com ênfase em pragas-chaves de diferentes culturas de importância econômica. Objetivou-se avaliar as características biológicas de *T. howardi* em lagartas de quarto ínstar, em pré-pupas e pupas do hospedeiro alternativo *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Erebidae), com diferentes densidades de fêmeas do parasitoide em condições de laboratório e semi-campo. Os bioensaios foram conduzidos no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL), e o ensaio de semi-campo realizado em casa-de-vegetação da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). No primeiro ensaio em laboratório, lagartas foram individualizadas em placas de Petri contendo dieta e expostas ao parasitismo por diferentes densidades (1:1, 5:1, 10:1, 15:1, 20:1 ou 25:1, parasitoide: hospedeiro) por um período de 96 horas. Em semi-campo, 4 lagartas foram distribuídas por vaso, contendo duas plantas de soja, individualizadas em gaiolas (80x50 cm). Posteriormente, foram liberadas 4, 20, 40, 60, 80 ou 100 fêmeas de *T. howardi*, representando as mesmas proporções utilizadas no laboratório, permanecendo nessas condições por 96 horas. Após o parasitismo, as fêmeas foram removidas e as lagartas foram individualizadas em placas de Petri contendo uma porção de dieta de alimentação até a morte ou até a emergência da progênie, permanecendo em câmara climatizada (BOD) a 25±1ºC, 70±10% de UR e fotofase de 14 horas. Nos seguintes bioensaios, pré-pupas e pupas foram expostas ao parasitismo por fêmeas de *T. howardi* com diferentes densidades (1:1, 5:1, 10:1, 15:1, 20:1 ou 25:1, parasitoide: hospedeiro) e após 24 horas, as fêmeas parasitoides foram removidas e os hospedeiros foram transferidos para tubos de vidro (15x1 cm) a 25±1ºC, 70±10% UR. Com o primeiro trabalho é possível concluir que 1 fêmea de *T. howardi* é capaz de parasitar e se desenvolver em lagartas de 4º ínstar de *A. gemmatalis* em laboratório e causar mortalidade em condições de semi-campo. No segundo trabalho, podemos concluir que *T. howardi* parasitou com êxito pré-pupas e pupas de *A. gemmatalis*, permitindo-nos considerar a faixa de 5 a 10 fêmeas de *T. howardi* a indicada para a multiplicação desse parasitoide em laboratório. De forma geral, os resultados nos permitem sugerir este parasitoide como um potencial agente de controle biológico.

Palavras-chave: Controle biológico; Eulophidae; densidade de parasitoides; desempenho reprodutivo; multiplicação massal.

GENERAL ABSTRACT

The pupal and larval endoparasitoid *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) lepidoptera pest has the potential to be used in biological control programs, and has been studied as a potential agent for use in biological control programs with an emphasis on principal pests of important cultures. The objective of this study was to evaluate the biological characteristics of *T. howardi* in fourth instar larvae, in pre-pupae and pupae of the alternative host *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Erebidae), with different densities of female parasitoids in laboratory and semi-field conditions.The bioassays were conducted at the Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL), and the semi-field test conducted in a greenhouse at the Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). In the first laboratory test, caterpillars were individualized in Petri dishes containing diet and exposed to parasitism by different densities (1: 1, 5: 1, 10: 1, 15: 1, 20: 1 or 25: 1, parasitoid: host) for 96 hours. In semi-field, 4 caterpillars were distributed per plant pot, containing two soybean plants, individualized in cages (80x50 cm). Subsequently, 4, 20, 40, 60, 80 or 100 females of *T. howardi* were released, representing the same proportions used in the laboratory, remaining in these conditions for a period of 96 hours. After the parasitism, the females were removed and the caterpillars were individualized in Petri dishes containing a portion of the diet fed until death or progeny emergence, remaining in a climatic chamber (BOD) at 25 ± 1ºC, 70 ± 10% of UR and photophase of 14 hours. In the following bioassays, pre-pupae and pupae were exposed to parasitism by *T. howardi* females at different densities (1: 1, 5: 1, 10: 1, 15: 1, 20: 1 or 25: 1, parasitoid: host) and after 24 hours the parasitoid females were removed and the hosts were transferred to glass tubes (15x1 cm) at 25 ± 1 ° C, 70 ± 10% RH. In the first work, it is possible to conclude that 1 *T. howardi* female is able to parasitize and develop on 4th instar larvae of *A. gemmatalis* in the laboratory and cause mortality in semi-field conditions. In the second work, we can conclude that *T. howardi* successfully parasitized pre-pupae and pupae of *A. gemmatalis*, allowing us to consider the range of 5 to 10 *T. howardi* females the most suitable for multiplication of this parasitoid in the laboratory. In general, the results allow us to suggest this parasitoid as a potential biological control agent.

Keywords: Biological control; Eulophidae; parasitoids density; reproductive performance; mass multiplication.

1. INTRODUÇÃO GERAL

No Brasil, as regiões Centro-Oeste e Sul são as maiores produtoras de soja, com destaque para a Região Centro-Oeste, principal região produtora dessa leguminosa no país. Em Mato Grosso do Sul a produtividade da soja na safra 2017/2018 atingiu a média de 3.593 kg/ha, com uma área plantada de 2,82 milhões de hectares para a safra 2018/2019 (MOURÃO *et. al.* 2014; CONAB 2018).

A expansão de extensas áreas cultivadas na última década, caracterizando o aumento da monocultura da soja, favorece o aumento populacional e desenvolvimento de diversas espécies de artrópodes-praga que se tornam desafios na condução da cultura. Durante todo o ciclo de desenvolvimento fenológico, diferentes insetos desfolhadores atacam a planta de soja e dentre eles a lagarta-da-soja *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Erebidae) destaca-se como sendo uma das principais espécies desfolhadoras, de ocorrência frequente e abundante em todo o território brasileiro onde a soja é cultivada, além de estar presente desde as regiões Norte e Central da Argentina até o Sudeste, e Estados do Golfo do México nos Estados Unidos, desenvolvendo-se preferencialmente em climas tropical e subtropical (HOMRICH *et. al.* 2008; MOSCARDI *et. al.* 2012).

Com o intuito de controlar os insetos-praga, os produtores utilizam prioritariamente grandes quantidades de inseticidas sintéticos sem o devido monitoramento, agravando problemas como os riscos de resíduos nos alimentos, contaminação ambiental, toxicidade aos aplicadores, fitotoxidez às plantas, o desenvolvimento de artrópodes-praga resistentes devido a aplicações inadequadas e consequentemente o desequilíbrio ambiental, nem sempre proporcionando resultados de controle eficiente (CHOUNG *et. al.* 2010; DI MARZIO *et. al.* 2010; FOUAD *et. al.* 2012; SILVA & BRITO 2015; COLL & WAJNBERG 2017).

O controle biológico é uma metodologia bem estabelecida para a supressão de artrópodes-praga por meio da preservação e/ou liberação de predadores, parasitoides, entomopatógenos ou populações antagonistas no campo (HEIMPEL & MILLS 2017). A utilização de himenópteros parasitoides como agentes de controle natural e aplicado no manejo de insetos considerados pragas, tem se tornado uma alternativa promissora devido à eficiência de ação (redução da população da praga para seu nível de equilíbrio), a facilidade e aos baixos custos de criação/produção (BARBOSA *et. al.*

2008; VAN LENTEREN 2012; FAVERO *et. al.* 2013), além de não representarem riscos de poluição ambiental (BARRAT *et. al.* 2010), motivando diversas pesquisas que visam ampliar o conhecimento na área de controle biológico no manejo integrado de pragas da cultura da soja.

Tetrastichus howardi (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide gregário e polífago, utilizado como agente potencial no controle biológico de diferentes lepidópteros-praga de importância agrícola (BAITHA *et. al.* 2004; PRASAD *et. al.* 2007; LA SALLE & POLASZEK 2007). Originário da Ásia, sua presença foi registrada em países como África do Sul, Austrália, Cuba e mais recentemente no Brasil, desenvolvendo-se em pupas das famílias de Lepidoptera: Crambidae, Noctuidae, Pyralidae, Plutellidae, Sphingidae; além de Coleoptera (MOORE & KFIR 1995; KFIR 1997; GONZÁLEZ *et. al.* 2003; BAITHA *et. al.* 2004; SILVA-TORRES *et. al.* 2010; CRUZ *et. al.* 2011; VARGAS *et. al.* 2011; BARBOSA *et. al.* 2015; OLIVEIRA *et. al.* 2016). Uma peculiaridade deste parasitoide é a sua capacidade de parasitar duas diferentes fases de desenvolvimento do seu hospedeiro natural (larvas e pupas) e emergir em adultos (VARGAS *et. al.* 2011; COSTA *et. al.* 2014; PEREIRA *et. al.* 2015), além da sua facilidade de multiplicação em hospedeiro alternativo (OLIVEIRA *et. al.* 2016), aumentando as chances de permanência e sobrevivência em condições de campo para realizar o controle eficiente.

Idealizando conhecer o potencial desse agente de controle biológico, estudos aplicados devem ser realizados para garantir o sucesso de futuros programas de controle biológico de pragas agrícolas. Fatores como o efeito da densidade de fêmeas parasitoides por hospedeiro, a preferência e o comportamento de escolha, além da possibilidade de utilizar novos hospedeiros para produção e multiplicação do agente de controle natural são técnicas de criação essenciais para maximizar a eficiência dos inimigos naturais em condições controladas (PARRA 2001; SAMPAIO *et. al.* 2001; FAVERO *et. al.* 2013; BARBOSA *et. al.* 2016).

Nesse contexto, considerando-se a importância do controle biológico de pragas em manejo integrado e tendo em vista o potencial biológico do parasitoide *T. howardi*, propõe-se avaliar as características biológicas e o desenvolvimento do parasitoide *T. howardi* em lagartas de *A. gemmatalis* em laboratório e semi-campo e determinar a densidade de fêmeas adequada para multiplicação de *T. howardi* em pré-pupas e pupas da lagarta-da-soja.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A cultura da Soja no Brasil

A soja [*Glycine max* (Linnaeus) Merril] pertence a Classe das Dicotiledôneas, família Fabaceae e tribo Phaseoleae. Suas folhas são trifolioladas, com exceção do primeiro par de folhas que é simples no primeiro nó acima dos cotilédones, e realiza fecundação autógama (EMBRAPA SOJA 2014).

A cultura é originária do continente asiático, mais precisamente da China, existindo relatos há mais de 5000 anos, na qual a leguminosa representava a base alimentar dessa população (CÂMARA 1998), e assim como na antiguidade, a China continua sendo o maior importador/consumidor desse grão atualmente.

Correspondente a uma das principais culturas cultivadas no mundo, representa a mais importante *'commodity'* comercializada pelo Brasil, país que se destaca como segundo maior produtor mundial de soja, devido a sua alta produtividade e geração de renda. Nos principais estados produtores, as boas condições climáticas têm favorecido a ascensão da produção e o aumento das áreas de cultivo de soja, com expectativas para a safra 2018/2019 de uma continuada tendência de crescimento da área plantada, atingindo 1,7% em relação à safra anterior, correspondendo ao plantio de 35,8 milhões de hectares de soja (CONAB 2018; IBGE 2018). A exportação de soja em grãos correspondeu a 51,6 milhões de toneladas (U$ 19,3 bilhões) e o total exportado do complexo soja a U$ 25,4 bilhões de dólares (EMBRAPA 2018).

A monocultura da soja tem sido a protagonista no aumento de área plantada (35,1 milhões de hectares) e produção de grãos de soja no Brasil (119,3 milhões de toneladas) na safra 2017/2018 (EMBRAPA 2018; CONAB 2018). A produtividade média nacional manteve-se entre 2.629 e 3.394 kg/ha, nos últimos dez anos. O crescimento da área cultivada com soja para o ano de 2018 foi estimado em 3,5%, saindo de 33,9 milhões de hectares (safra 2016/17) para 35,1 milhões de hectares, na safra 2017/2018 (CONAB 2018). Em decorrência da evolução desse cenário, justifica-se o aumento da produção de soja no Brasil ser devido tanto ao aumento da área cultivada quanto da produtividade de grãos (BALBINOT-JUNIOR *et. al.* 2017).

As principais regiões que se destacam como produtoras dessa '*commodity*' são as regiões Centro-Oeste e Sul. Os principais estados produtores compreendem Mato Grosso, com produção de 32,2 milhões de toneladas de grãos; Paraná com produção de

19,2 milhões de toneladas de grãos; Rio Grande do Sul, com 18,7 milhões de toneladas; e Goiás com produção de 10,82 milhões de toneladas. Na região Centro-Sul como um todo, estima-se uma produção média de 102,1 milhões de toneladas de soja e produtividades médias para a região de 3.348 kg/ha para a safra 2018/2019 (CONAB 2018).

Devido ao desempenho produtivo do estado de Mato Grosso, considerado maior produtor nacional da oleaginosa, o incremento na área plantada atingiu 2,6% em relação a safra 2017/2018, ultrapassando os 16 milhões de hectares semeados. Em Mato Grosso do sul, estima-se uma produção de 9 milhões de toneladas de grãos de soja, com produtividade de 3.200 kg/ha, em uma área de 2,8 milhões de hectares para a safra 2018/2019 (CONAB 2018). O impulso dado à produção de soja nas últimas décadas está diretamente relacionado com o aumento da demanda de carnes e outras proteínas animais, como resultado do crescimento da economia mundial que, paralelamente, promoveu o aumento da renda per capita e, como consequência, resultou no aumento do consumo de proteína animal, que exige grandes demandas de farelos proteicos (HENCHION *et. al.* 2014; RIGO *et. al.* 2015).

Considerado um dos principais cultivos da agricultura mundial, devido ao seu alto potencial produtivo, composição química e valor nutritivo, os produtos gerados, denominados de ‘complexo soja’ possuem diferentes formas de aplicações, tanto na alimentação humana como animal, sobretudo por constituir matéria-prima indispensável para impulsionar diversos complexos agroindustriais no Brasil, tais como as indústrias de sementes, fertilizantes, máquinas agrícolas, dentre outros (MAUAD *et. al.* 2010), composto pela soja em grãos (114,97 milhões de toneladas) e seus derivados, como óleo (8,3 milhões de toneladas), usado principalmente para o consumo humano e para fabricação de biodiesel (CASTANHEIRA *et. al.* 2015); e farelo de soja (33,1 milhões de toneladas), consumidos principalmente na indústria alimentícia humana e animal, como suplementação proteica de aves, suínos e bovinos (CONAB 2018).

Em relação aos cultivos, a soja orgânica vem se destacando também em área cultivada e volume de produção, não só pela crescente demanda dos mercados consumidores, como o japonês e europeu principalmente (GARCIA 2003; HIRAKUR *et. al.* 2011), no qual agrega valor ao grão, mas também por maximizar o aproveitamento de nitrogênio, nestes sistemas (HIRAKUR *et. al.* 2011).

Fatores como variações climáticas e incidência de pragas e doenças, por influenciarem principalmente na quantidade produzida e na qualidade de grãos, possuem significativa importância na definição do preço de mercado. O monocultivo da soja tem favorecido o surgimento e a permanência de populações de diversos artrópodes-praga durante todo seu desenvolvimento, da semeadura a colheita, devido a oferta de alimento em grande escala de cultivo.

Nesse cenário, os indivíduos possuem condições ótimas e atingem facilmente o nível de dano econômico, podendo trazer sérios prejuízos aos agricultores. As lagartas desfolhadoras destacam-se como uma das principais pragas da cultura da soja, pois em altas populações provocam grandes perdas de produtividade, causadas por danos diretos e indiretos, através da diminuição de área foliar fotossinteticamente ativa, entrada de patógenos devido as injúrias que prejudicam consequentemente o desenvolvimento de vagens e grãos (HOFFMANN-CAMPO *et. al.* 2012; MOSCARDI *et. al.* 2012). Dentre o complexo de lepidópteros-praga da sojicultura, a lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Erebidae), é considerada uma das desfolhadoras de soja mais recorrentes no Brasil (PANIZZI *et. al.* 2004; MOSCARDI *et. al.* 2012).

2.2 Lagarta-da-soja *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae)

Na Argentina, Chile e Uruguai e Brasil, ocorrem 69 espécies de Lepidópteros-praga que consomem a soja durante todo o seu desenvolvimento no campo (FORMENTINI *et. al.* 2015). Considerada como praga desfolhadora da soja nos EUA, México, Colômbia, Venezuela, Brasil e Argentina, *A. gemmatalis* conhecida popularmente como lagarta-da-soja, destaca-se por causar prejuízos econômicos na cultura, por sua abundância e ocorrência frequente em todas as regiões do país onde a soja é cultivada, podendo ocorrer durante todo o ciclo fenológico da cultura, desde a emergência das plantas até a maturação fisiológica dos grãos (HOFFMANN-CAMPO *et. al.* 2000; PANIZZI 2006; MARTINS *et. al.* 2009; MOSCARDI *et. al.* 2012).

As mariposas apresentam envergadura de asas de 30 a 38 mm, apresentando uma linha diagonal de cor marrom canela unindo as pontas do primeiro par de asas, característica essa, que auxilia em seu reconhecimento e diferenciação com outras espécies de lagartas, pois possuem uma coloração variável na parte dorsal (de cinza claro ao marrom-escuro). Devido ao seu hábito noturno, ao final do dia elas iniciam

voos curtos e orientados, em grande parte pela emissão do feromônio sexual liberado pelas fêmeas, e dessa forma localizam seus parceiros para o acasalamento e, posteriormente encontram plantas para a oviposição. Durante o dia são encontradas sob a vegetação ao redor de áreas de soja e se escondem nas partes baixas e sombreadas das plantas (SOSA-GÓMEZ *et. al.* 2010; MOSCARDI *et. al.* 2012).

A oviposição ocorre geralmente de forma isolada nas folhas ou hastes das plantas (GREENE *et. al.* 1973; PRAÇA *et. al.* 2006) e com maior proporção de ovos depositada na parte média e inferior das plantas de soja (FERREIRA & PANIZZI 1978). Os ovos recém ovipositados são inicialmente de cor esbranquiçada a verde-clara, de tamanho diminuto (aproximadamente 0,6 mm de diâmetro), difíceis de serem detectados, pois se camuflam com o mesmo tom de verde das folhas, pecíolos e hastes, eclodindo após um período que varia de 2,2 a 3,9 dias (dependendo da temperatura local) (SOSA-GÓMEZ *et. al.* 2010; MOSCARDI *et. al.* 2012).

A fase larval geralmente apresenta coloração verde, com três estrias brancas longitudinais sobre o dorso e possui quatro pares de pernas abdominais, sendo que dois deles são vestigiais e também possuem mais um par de pernas anais. Durante os primeiros ínstares o consumo foliar é muito pequeno e nesse estádio menos desenvolvido, o dano é mínino resultante de raspagens em tecidos foliares mais tenros. Também é nesse início de desenvolvimento que a fase larval é confundida com lagartas falsas-medideiras, da família Plusiinae como a *Chrysodeixis* (= *Pseudoplusia*) *includens* (Walker, 1858) devido ao caminhamento característico “medindo palmos” (MOSCARDI *et. al.* 2012; ÁVILA & GRIGOLLI 2014).

A partir do quarto ínstar, as lagartas possuem tamanho igual ou superior a 1,5 cm, e apresentam três linhas longitudinais brancas no dorso, podem apresentar coloração do tegumento verde ou escura. Possuem quatro pares de falsas pernas abdominais (propernas) e, dependendo das condições ambientais, podem apresentar de cinco a seis ínstares larvais, chegando a medir de 40-50 mm de comprimento. Em condições de alta população e ataque intenso à cultura, assumem a coloração negra/escura mantendo as estrias brancas, devido a uma modificação fisiológica atribuída a essa espécie, induzida/causada pela competição ao alimento (SOSA-GÓMEZ *et. al.* 2010; MOSCARDI *et. al.* 2012; ÁVILA & GRIGOLLI 2014).

Após o último ínstar larval, a lagarta transforma-se em pré-pupa, momento no qual cessa sua alimentação e prepara-se para virar pupa. Inicialmente, a pré-pupa

permanece encolhida e apresenta dorso de cor rosada ou esverdeado (PRAÇA *et. al.* 2006). Em seguida, a pré-pupa se desloca para a parte inferior da planta de soja e constrói na superfície do solo sob folhas secas uma câmara pupal ou, usualmente protegem-se em até dois centímetros de profundidade no solo (LEE & JOHNSON 1990). As pupas apresentam coloração marrom escuro e após o período de 10 a 12 dias em média, emergem as mariposas, que acasalam na primeira noite após a emergência, iniciando a oviposição três a quatro dias depois, com pico de postura acontecendo próximo ao quinto dia de vida do adulto (MAGRINI *et. al.* 1999; MOSCARDI *et. al.* 2012).

Anticarsia gemmatalis pode apresentar até quatro gerações em uma safra da cultura, passando pelas fases de ovo, larva, pupa e adulto. Esse lepidóptero na fase larval consome cerca de 100 a 150 cm² de área foliar, e aproximadamente 96% desse consumo ocorre do quarto ao sexto ínstares larvais (HOFFMANN-CAMPO *et. al.* 2000; BATISTELA *et. al.* 2012), causando danos severos à soja em áreas cultivadas por todo o Brasil (MOSCARDI & SOUZA 2002), além de se alimentar do limbo e das nervuras foliares, podendo ocasionar desfolhamento total das plantas (LOURENÇÃO *et. al.* 2010).

Existem, também, outras culturas de importância econômica em que a lagarta-da-soja causa prejuízos, como cultura da alfafa, o amendoim, o arroz, a ervilha, o feijão, o feijão-vagem e o trigo, atacando durante a fase vegetativa e, em alguns casos, até no período da floração (PRATISSOLI 2002; RAHMAN *et. al.* 2007). Em países como o Brasil, com flora diversificada, diferentes espécies de plantas silvestres hospedam *A. gemmatalis* e encontram-se presentes no decorrer de todo o ano, ofertando abrigo e servindo de fonte de alimento, possibilitando a sobrevivência desse inseto-praga e sua permanência entre uma safra e outra (SAVIO & PINOTTI 2008; MOSCARDI *et. al.* 2012).

A dinâmica populacional e a bioecologia de *A. gemmatalis* podem variar consideravelmente nas diferentes regiões onde ocorrem, principalmente devido às diferenças observadas na temperatura e nutrição dos insetos (MILANO 2008). Regiões com altas temperaturas favorecem a ocorrência de dessa praga-chave, como no Centro-Oeste do Brasil, assim como em todas as regiões de cultivo que ocorrem anos mais secos, já que essa condição desfavorece a ocorrência natural de fungos entomopatogênicos que regulam sua população naturalmente (CORRÊA *et. al.* 1977;

GAZZONI *et. al.* 1981,1994; HOFFMANN-CAMPO *et. al.* 2000, PRAÇA *et. al.* 2006; SOSA-GÓMEZ *et. al.* 2010).

Grande incidência de lagartas *A. gemmatalis* gera enormes consequências pela rápida redução da área foliar fotossinteticamente ativa da soja, e devido ao seu ataque voraz ocorrem perdas na produção de grãos, portanto o desfolhamento antecipado ao período reprodutivo da cultura é primordial por afetar o processo de enchimento das vagens (MENDONÇA *et. al.* 2009).

2.3 Manejo integrado de pragas com parasitoides na sojicultora

Devido a cultura da soja ser cultivada extensivamente em áreas agrícolas por todo o mundo e principalmente no Brasil, os produtores necessitam controlar os artrópodes fitófagos com a adoção de estratégias, geralmente recorrendo ao uso excessivo de produtos fitossanitários utilizados sem a correta precaução. Medidas para o manejo de pragas, mais tarde conhecidas por Manejo Integrado de Pragas da Soja (MIP), têm como objetivo reduzir o uso excessivo de produtos químicos aplicados e os consequentes surtos de artrópodes-pragas, além de melhorar a produtividade da cultura de forma sustentável (PEDIGO 1995; HOFFMANN-CAMPO *et. al.* 2012; GAZZONI 2012; BUENO *et. al.* 2013).

No passado, a soja no Brasil era cultivada com o uso de agroquímicos aplicados sem a adoção de qualquer limiar econômico para fundamentar essa decisão. Os programas de manejo de pragas de soja foram realizados com sucesso no Brasil durante as décadas de 1970 e 1980, e o uso de agroquímicos foi reduzido a cada safra (PANIZZI 2013). Com a introdução e o estabelecimento da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi*, a introdução de variedades de soja transgênica, a falta de níveis de ação para esse novo cenário, além dos custos reduzidos dos agroquímicos, o uso do MIP foi sendo cada vez mais deixado de lado e o uso indiscriminado de produtos fitossanitários voltou a crescer. O atual cenário demonstra que o Brasil é o maior consumidor de produtos fitossanitários do mundo, apesar de possuir a fauna de insetos benéficos mais rica e abundante (SOSA-GÓMEZ *et. al.* 2003, 2012; GAZZONI 2012; PEDLOWSKI *et. al.* 2012; BUENO *et. al.* 2013; RIGOTTO *et. al.* 2014; BORTOLOTTO *et. al.* 2015).

Como consequência, as aplicações de inseticidas atingiram novamente níveis que excedem os limites por safra (PANIZZI 2013), prejudicando a eficiência dos

agentes de controle biológico existentes que sobrevivem em lavouras de soja (CARMO *et. al.* 2010). Nesse contexto, deve-se ressaltar também que o uso irracional de produtos fitossanitários, além de não proporcionar controle eficiente e possuir custos mais elevados, afeta diretamente a saúde humana e a contaminação do agroecossistema, bem como agrava o ressurgimento de pragas, pois causa surtos secundários de pragas e aumenta os riscos de fitotoxidez às plantas e o desenvolvimento de artrópodes-praga resistentes (MEISSLE *et. al.* 2010; CHOUNG *et. al.* 2010; DI MARZIO *et. al.* 2010; FOUAD *et. al.* 2012).

O MIP compreende uma filosofia que consiste na integração de práticas e métodos apropriados de controle de pragas, de um modo compatível, que possibilita a manutenção das populações de artrópodes-praga abaixo do nível de dano econômico, incluindo a combinação de várias estratégias e táticas de controle sustentáveis de artrópodes-praga (KOGAN 1998). Dentre os diferentes componentes do MIP, o Controle Biológico se destaca pela utilização de inimigos naturais, dentre eles parasitoides, predadores e microrganismos entomopatogênicos, que naturalmente regulam as populações de artrópodes-pragas, mantendo-a em equilíbrio no agroecossistema. Mesmo em cultivos tão simplificados como os extensos monocultivos de produção de soja, existe uma considerável população de inimigos naturais que podem competir entre si em busca de melhores presas ou hospedeiros, para garantir o desenvolvimento de sua descendência, estabelecendo nichos separados e dessa forma coexistir (MESQUITA & LACEY 2001; GAZZONI 2012; PANIZZI 2013; WU *et. al.* 2014; BORTOLOTTO *et. al.* 2015; HEIMPEL & MILLS 2017).

Na história da sojicultura, há exemplos de sucesso de utilização do controle biológico aplicado para o controle de *A. gemmatalis*, como a utilização do vírus entomopatogênico *Baculovirus anticarsia* (AgMNPV) e parasitoides de ovos de percevejos que já são realidade na cultura da soja, mas sua adoção ainda precisa ser expandida para todo o território nacional e novos programas precisam ser desenvolvidos. Além dos exemplos mencionados anteriormente, existem ainda outros agentes de controle biológico, como os hymenópteros parasitoides reguladores de populações de leídópteros-praga, que poderão ser selecionados para o desenvolvimento de novos programas de controle biológico aplicado, por sua eficiência, menor custo de produção, facilidade no processo de criação e alta capacidade de reprodução (VAN LENTEREN 2012; FAVERO *et. al.* 2013; 2014; DE ABREU *et. al.* 2018) e por não

causarem risco ambiental comparado ao controle químico (BARRAT *et. al.* 2010; BUENO *et. al.* 2012a).

No Paraná, segundo maior produtor de soja do Brasil (CONAB 2018) existem oito espécies registradas como parasitoides de ovos de *A. gemmatalis*. *Telenomus cyamophylax* Polaszek, 1997 (Hymenoptera: Platygastridae) (POLASZEK & FOERSTER 1997) e *Encarsia porteri* (Mercet, 1928) (Hymenoptera: Aphelinidae) (FOERSTER & AVANCI 1999). As demais espécies pertencem ao gênero *Trichogramma*, como *Trichogramma acacioi* Brun, Moraes e Soares, 1984, *Trichogramma atopovirilia* Oatmann & Platner, 1983, *Trichogramma lasallei* Pinto, 1999, *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879, e *Trichogramma rojasi* Nagaraja & Nagarkatti, 1973, e *Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (CAÑETE & FOERSTER 2003; AVANCI *et. al.* 2005; DUDCZAK *et. al.* 2017).

Dentre os parasitoides da fase larval de *A. gemmatalis* destacam-se alguns dípteros, como: *Patelloa* spp., *Euphorocera* sp., *Jurinella salla* Curran, 1947 (Diptera: Tachinidae); e hymenópteros parasitoides: *Meteorus leviventris* (Wesmael, 1835) (Hymenoptera: Braconidae), *Ophium flavidus* Brullé, *Campoletis sonorensis* (Cameron, 1886), *Microcharops bimaculata* (Ashmead, 1895), *Microcharops anticarsiae* Gupta, 1987 (Hymenoptera: Ichneumonidae) e *Euplectrus chapadae* Ashmead, 1904 (Hymenoptera: Eulophidae) (BUENO *et. al.* 2012b; HOFFMANN-CAMPO *et. al.* 2012).

O uso de controle biológico de pragas por inimigos naturais tornou-se uma estratégia relevante e eficiente em todo o mundo. Atualmente, o controle biológico aplicado é uma metodologia bem estabelecida com potencial para manter em níveis razoavelmente baixos as populações de inúmeras pragas agrícolas por meio da sua multiplicação e liberação de inimigos naturais no campo (PARRA 2006; MASON *et. al.* 2008; HEIMPEL & MILLS 2017). O fato de que esse método pode ser compatível com outras táticas de controle, suplementa o sucesso do MIP devido a integração de diferentes táticas de controle. Tendo em vista o atual cenário agrícola do Brasil, o controle químico ainda é indispensável em grandes áreas de produção e o uso integrado de inseticidas juntamente com inimigos naturais torna-se essencial para futuro do MIP em soja, principalmente utilizando-se agroquímicos seletivos aos inimigos naturais

(CARVALHO *et. al.* 2013; BORTOLOTTO *et. al.* 2015; VAN LENTEREN *et. al.* 2018).

Vários desafios estão atrelados ao sucesso do controle biológico aplicado, tais como o desenvolvimento de um conjunto tecnológico que confira suporte aos produtores, que seja fidedígno com a realidade do monocultivo de soja, permitindo a sua adoção em larga escala, minimizando os efeitos negativos da aplicação de produtos fitossanitários para o controle das pragas, como alternativas para o mercado crescente do cultivo orgânico da soja, entre outras demandas crescentes da sociedade brasileira (BUENO *et. al.* 2012b; HOFFMANN-CAMPO *et. al.* 2012; BORTOLOTTO *et. al.* 2015; VAN LENTEREN *et. al.* 2018).

Desenvolver tecnologias limpas que sejam tecnicamente eficientes e economicamente competitivas também se torna um grande desafio, devido a grande frequência de pragas presente no agroecossistema. Investigar a aptidão biológica desses agentes no controle biológico, bem como determinar seus parâmetros biológicos e capacidade de parasitismo/reprodutiva por fêmea parasitoide, faz-se necessário para o desenvolvimento de futuros programas de controle biológico, visando à sua manutenção e/ou à liberação de inimigos naturais na cultura da soja (BUENO *et. al.* 2012a; HOFFMANN-CAMPO *et. al.* 2012; PARRA 2014; BORTOLOTTO *et. al.* 2015; VAN LENTEREN *et. al.* 2018).

2.4 Aspectos bioecológicos de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae)

Dentre os inimigos naturais mais estudados, os himenópteros parasitoides são aqueles cujas larvas se desenvolvem em outro artrópode, usualmente um inseto, acarretando a sua morte ao final do seu desenvolvimento (GODFRAY 1994). Esse grupo compreende o táxon mais rico em espécies (SANTOS & QUICKE 2011), e incluem os insetos com menor comprimento corporal (QUICKE 2015), que exploram os mais variados recursos biológicos (podendo suas larvas alimentar-se de ovos, larvas, pupas ou adultos dos hospedeiros) de uma forma impressionante (GAULD & BOLTON 1988; GODFRAY 1994; YEFREMOVA 2008; JERVIS & FERNS 2011; MAYHEL 2016).

Parasitoides são reguladores populacionais especializados de insetos e se destacam como o principal grupo de inimigos naturais em sistemas agrícolas (PARRA 2014). A maioria dos parasitoides pertence às ordens Hymenoptera e Diptera (QUICKE

1997; GODFRAY 1994) e podem ser endoparasitoides, ectoparasitoides, idiobiontes ou cenobiontes, solitários ou gregários, primários ou hiperparasitoides, especialistas ou generalistas com potencial para o controle biológico (HARVEY *et. al.* 2013; HARVEY & MALCICKA 2016).

Chalcidoidea é um grupo megadiverso pertencente a Ordem Hymenoptera, constituído em sua maioria de vespas parasitoides de grande importância ecológica e econômica, apresentando uma surpreendente diversidade de morfologia e biologia (GIBSON *et. al.* 1999), presentes em quase todos os habitats terrestres existentes (PETERS *et. al.* 2018). Por ser um grupo altamente diversificado de insetos, apresenta mais de 22.500 espécies descritas e estima-se que mais de 500.000 espécies ainda não foram registradas e classificadas (NOYES 2004; HERATY 2017). Devido ao seu estilo de vida 'parasitico' e ampla gama de hospedeiros, incluem algumas das espécies mais bem-sucedidas e amplamente utilizadas para o controle biológico de insetos-praga, evidenciando sua importância econômica como agentes de controle biológico é inestimável (HERATY 2017; PETERS *et. al.* 2018).

Eulophidae é atualmente a maior família pertencente a Chalcidoidea (Hymenoptera), com cerca de 5000 espécies distribuídas mundialmente, seguidas por Encyrtidae e Pteromalidae, que inclui 297 gêneros e 4.472 espécies distribuídas em quatro subfamílias: Entedoninae, Euderinae, Eulophinae e Tetrastichinae (AGUIAR *et. al.* 2013; NOYES 2014; FERNANDES *et. al.* 2019). As espécies de Tetrastichinae (Eulophidae) possuem uma grande variedade de hospedeiros (HANSON & GAULD 1995), considerados ambiental e economicamente importantes, sendo algumas espécies identificadas como importantes agentes de controle biológico para um amplo espectro de insetos-praga (MUNRO *et. al.* 2011; GADALLAH 2015).

A maioria das espécies de Eulophidae é constituída predominantemente por minúsculas vespas parasitoides (0,5-2 mm), presentes em todas as regiões tropicais e temperadas, com desenvolvimento ecto e/ou endoparasitoides, idiobiontes ou cenobiontes, solitários ou gregários, parasitoides primários ou hiperparasitoides facultativos ou obrigatórios, especialistas ou generalistas, geralmente em estágios larvais de insetos holometábolos como lepidópteros, coleópteros, dípteros e himenópteros. Apresentam diversidade de hospedeiros de diferentes táxons, incluindo mais de 100 famílias e 10 ordens (GAUTHIER *et. al.* 2000; CANTOR *et. al.* 2006; MUNRO *et. al.* 2011; MAIA 2012), embora o grupo inclua também espécies indutoras

de galhas, especialmente nos trópicos (LA SALLE 2005; NIEVES-ALDREY & ASKEW 2011).

Tetrastichus howardi (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) pertence a subfamília Tetrastichinae, na qual a progênie desenvolve-se no interior de outros insetos (endoparasitoide) ocasionando a morte, tornando-se um inimigo natural com grande potencial como agente de controle biológico, encontrando-se associado a um grande número de espécies de lepidópteros-pragas de culturas importantes (BAITHA *et. al.* 2004; LA SALLE & POLASZEK 2007; PRASAD *et. al.* 2007; VARGAS *et. al.* 2011). O diferencial desse parasitoide polífago é a sua capacidade de parasitar diferentes fases de desenvolvimento do hospedeiro, pois já foi registrado o seu desenvolvimento em larva, pupa e adulto do hospedeiro *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) (VARGAS *et. al.* 2011; PEREIRA *et. al.* 2015).

Testrastichus howardi é um parasitoide cosmopolita e gregário e o seu desenvolvimento tem sido registrado preferencialmente em diferentes lepidopteros desfolhadores/pragas, como pupas das famílias Crambidae (CRUZ *et. al.* 2011; PEREIRA *et. al.* 2015), Sphingidae (BARBOSA *et. al.* 2015), Plutellidae (SILVA-TORRES *et. al.* 2010), Noctuidae e Pyralidae. Por ser uma espécie generalista demonstra seu potencial como agente de controle biológico (KFIR *et. al.* 1993; MOORE & KFIR 1995; LA SALLE & POLASZEK 2007; SILVA-TORRES *et. al.* 2010; CRUZ *et. al.* 2011; VARGAS *et. al.* 2011), além de demonstrar a habilidade de penetrar e buscar ativamente a praga como no caso da broca *D. saccharalis* nas galerias produzidas em plantas de cana-de-açúcar (FELIX *et. al.* 2005).

Testrastichus howardi é uma espécie originária da região Indo-Asiática, amplamente distribuída no norte da China e oeste do Paquistão (LA SALLE & POLASZEK 2007), nas Filipinas (RAO 1965; MOHYUDDIN 1990) e Índia (CHERIAN & SUBRAMANIAM 1940; BAITHA & MAURYA 2012). Inicialmente o parasitoide foi reportado como *Aprostocetus* (*Aprostocetus* Westwood) (Hymenoptera: Eulophidae, Tetrastichinae), posteriormente devido a presença de marcas características na sua morfologia foi reclassificado como *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae) (LA SALLE 1994; GONZÁLEZ *et. al.* 2003; ÁLVAREZ *et. al.* 2007).

Essa espécie foi introduzida das Filipinas na África do Sul, inicialmente para o controle da broca *Chilo partellus* (Swinhoe, 1885) (Lepidoptera: Pyralidae), praga-

chave importante para as culturas de milho e sorgo, além de causar danos em cultivos de arroz, trigo, cana-de-açúcar, milheto e gramíneas silvestres quando na fase jovem e posteriormente no controle de *Busseola fusca* (Fuller, 1901) (Lepidoptera: Noctuidae), considerada o lepidóptero mais destrutivo em culturas de milho e sorgo na África (KFIR *et. al.* 1993; MOORE & KFIR 1995; KFIR 2001; RAO *et. al.* 2001; PESSOA *et. al.* 2016).

Em cultivos de cana-de-açúcar na Índia, o controle da broca do interior da cana *Chilo sacchariphagus indicus* (Kapur, 1950) (Lepidoptera: Crambidae) realizado por *T. howardi* varia conforme a zona climática, apresentado melhor desempenho em áreas de clima quente e seco. O controle de outra broca-da-cana-de-açúcar também foi relatado para *Chilo infuscatellus* Snellen, 1890 (Lepidoptera: Crambidae), e para *Sesamia inferens* (Walker, 1856) (Lepidoptera: Noctuidae) uma das principais pragas do arroz (SANKAR *et. al.* 2014; SRIKANTH 2016).

No sudeste do Vietnã, *T. howardi* foi considerado o mais importante parasitoide pupal das brocas que depreciam a cana-de-açúcar, juntamente com o parasitoide de ovos *Trichogramma chilonis* Ishii, 1941 (Hymenoptera: Trichogrammatidae), o parasitoide larval *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) e o predador *Euborellia annulipes* (Lucas, 1847) (Dermaptera: Anisolabididae) (DUONG *et. al.* 2011). Na China, foi registrado seu parasitismo natural em pupas de *Chilo auricilia* Dudgeon, 1905 (Lepidoptera: Crambidae) e é discutida a possibilidade de usar *T. howardi* para controlar essa broca que é praga no arroz e cana-de-açúcar (LIAO *et. al.* 2013). No Brasil, Cruz *et. al.* (2011) identificaram o parasitoide em pupas de *D. saccharalis* coletadas em milho e Vargas *et. al.* (2011) coletaram uma pupa de *Diatraea* sp. parasitada por *T. howardi* em plantio de cana-de-açúcar, no município de Dourados - Mato Grosso do Sul. Shimbori *et. al.* (2017) registraram sete espécies de eulofídeos com ocorrência no estado do Mato Grosso do Sul, incluindo *T. howardi*.

O corpo do adulto possui coloração escura com brilho metálico, mas algumas espécies podem apresentar colorações claras. *T. howardi*, no entanto, possui duas setas na veia submarginal na superfície dorsal da asa anterior (LA SALLE & POLASZEK 2007). As características que separam os eulofídeos das demais famílias é possuir todos os tarsos com quatro segmentos em ambos os sexos e antenas com sete a nove segmentados, com no máximo quatro segmentos de funículo; gáster com pecíolo

distinto para que haja um estreitamento distinto entre o propódeo e o gáster. Além disso, o esporão foretibial geralmente apresenta-se reto e simples (NOYES 2004).

Após as fêmeas de *T. howardi* introduzirem os ovos no seu hospedeiro, desenvolvem-se três ínstares larvais, que posteriormente se transformam em pupas, das quais emergem a progênie de adultos. Os ovos são do tipo "himenopteriforme", de coloração branco-leitosa, 0,28 e 0,30 mm de comprimento e 0,08 mm de largura. Uma fêmea põe uma média de 30 ovos através da inserção do ovipositor no hospedeiro, e essa fase inicial dura em torno de 2 dias. O tamanho das larvas, pupas e adultos variam devido a espécie, tamanho do hospedeiro e número de larvas que se desenvolvem nelas. A duração da fase larval se dá em torno de 6 dias. Nos primeiros ínstares larvais (L1) a cor das larvas é esbranquiçada, e seu aparelho bucal é reduzido a duas mandíbulas opostas e arqueadas, com tamanho inicial de 0,8 mm, o segundo (L2) e terceiro (L3) ínstares se diferenciam apenas pelo tamanho larval, com mandíbulas mais robustas e desenvolvidas e corpo ligeiramente curvado de cor creme. Os tamanhos de L2 variam de 1,2 a 2 mm de comprimento e os tamanhos de L3 oscilaram de 2,5 a 2,9 mm. As pupas apresentam inicialmente coloração amarelo-pálido e aspecto esculpido/entalhado, livre/exarada, ocorrendo o escurescimento com o tempo de desenvolvimento. A coloração dos olhos compostos e ocelos variam desde o amarelo-claro ao laranja e posteriormente tornam-se vermelho, para findar com a coloração vermelho-escuro pouco antes da emergência do inseto adulto. O período de desenvolvimento conferido as pupas dura cerca de 8 a 9 dias. Os adultos desenvolvem-se em um ciclo que varia entre 16 e 18 dias (ovo ao adulto), na temperatura média de 25 ºC. O comprimento do corpo das fêmeas varia de 1,6 a 2,2 mm, enquanto os machos medem de 1,3 a 1,8 mm (GONZÁLEZ *et. al.* 2003).

Os adultos apresentam um marcado dimorfismo sexual, sendo as diferenças sexuais perceptíveis através das antenas, em estrutura, distribuição e abundância de sensilas antenais. As antenas das fêmeas apresentam flagelo contendo três segmentos cilíndricos funicular e uma clava cônica, mais longa que as masculinas, estes por sua vez possuem mais um segmento de funículo que as fêmeas. O escapo e o pedicelo das antenas das fêmeas são castanho-amarelas claras e o flagelo e clava apresentam coloração marrom escura a preta. Na antena masculina apenas a clava que possui pigmentação escura e os demais segmentos apresentam coloração castanho-amarelada clara (LA SALLE & POLASZEK 2007; ZHENG *et. al.* 2016). Devido ao dimorfismo

sexual tão marcante nessa espécie é possível sexar suas pupas perfeitamente esclerotizadas apenas examinando as particularidades de cada antena (machos possuem o flagelo antenal branco com a clava preta, enquanto as fêmeas possuem todos os flagelos enegrecidos) (ÁLVAREZ *et. al.* 2003). Outra característica que os diferencia é a cor da coxa e fêmur nas pernas anteriores, que nas fêmeas são mogno e nos machos são de coloração amarelo-clara (GONZÁLEZ 2003).

2.5 Criação massal com parasitoides

Após a coleta e correta identificação dos inimigos naturais, as etapas que devem ser estudadas em um sistema que visa à produção em grande escala de agentes de controle biológicos, como eulofídeos, por exemplo, são: manutenção das linhagens regionais através da seleção de hospedeiros alternativos adequados para criação massal dos parasitoides; estudo dos aspectos biológicos e comportamenteis em condições laboratoriais, que posteriormente devem ser realizados em semi-campo e campo; relações dinâmicas entre o inimigo natural e a praga que se quer controlar; estudos envolvendo quantidade de liberação e dispersão por pontos em uma determinada área, época e forma de liberação; controle de qualidade das linhagens; seletividade dos inimigos naturais a agroquímicos, e avaliação da eficiência em campo (PARRA 2001; PARRA & CÔNSOLI 2009; PARRA 2014).

Os métodos e técnicas de criação massal, o potencial reprodutivo e o comportamento do parasitoide são necessários para o melhor entendimento das relações oriundas entre parasitoide-hospedeiro, e para aumentar as chances de sucesso em futuros programas de controle biológico a serem desenvolvidos (PEREIRA *et. al.* 2009; PEREIRA *et. al.* 2010a,b; PASTORI *et. al.* 2012; KUMAR *et. al.* 2016a). Os parâmetros biológicos dos parasitoides requerem extensivas pesquisas para aprimorar as técnicas de multiplicação em larga escala e reduzir os custos de produção dos inimigos naturais (PEREIRA *et. al.* 2009; FAVERO *et. al.* 2013). O desenvolvimento de metodologias de multiplicação massal depende do conhecimento dos parâmetros biológicos relacionados ao inimigo natural, além da sensibilidade dos inimigos naturais aos fatores abióticos como temperatura, luz e umidade do ar (GODFRAY 1994; FAVERO *et al.* 2013; RODRIGUES *et al.* 2013; COSTA *et. al.* 2014; KUMAR *et. al.* 2016a).

A multiplicação do agente de controle biológico em criações massais servem de suporte para a implementação de programas de controle biológico, fazendo com que este se consolide como parte fundamental do manejo integrado de pragas (BAITHA & MAURYA 2012; VARGAS *et. al.* 2013; PARRA 2014). Devido a ausência de dietas artificiais torna necessário o uso de um grande número de hospedeiros alternativos para a produção desses insetos (MILWARD-DE-AZEVEDO *et. al.* 2004). A qualidade da produção e criação massal de agentes de controle biológico está diretamente relacionada com a disponibilidade de hospedeiros naturais ou alternativos para a multiplicação dos mesmos em criações massais (ZANUNCIO *et. al.* 2008).

T. howardi possui hábito gregário e alto potencial reprodutivo 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; KUMAR *et. al.* 2016a,b). De acordo com o exposto anteriormente, a densidade de parasitoides ao hospedeiro podem afetar a capacidade de parasitismo (SAGARRA *et. al.* 2000; SILVA-TORRES *et. al.* 2010; PASTORI *et. al. 2012;* FAVERO *et. al.* 2013; COSTA *et. al.* 2014), a produção de progênie (FOERSTER *et. al.* 2001; CHONG & OETTING 2006; PASTORI *et. al.* 2012; CHICHERA *et. al.* 2012; PIÑEYRO *et. al.* 2016), a razão sexual da progênie (CHOI *et. al.* 2001; KUMAR *et. al.* 2016a), a duração do ciclo de vida (ovo-adulto) (SILVA-TORRES & MATTHEWS 2003; BARBOSA *et. al.* 2008) e a longevidade de adultos (SILVA-TORRES & MATTHEWS 2003). Dessa forma, o conhecimento da adequação da densidade de parasitoides por hospedeiro torna-se necessário para definir a proporção ideal de fêmeas por pupa hospedeira e assegurar a qualidade de indivíduos produzidos. Uma adequada proporção de fêmeas parasitoides resultará em uma progênie com alta capacidade de parasitismo da praga e reprodutiva (FAVERO *et. al.* 2013; COSTA *et. al.* 2014).

Outro fator de grande importância em um programa de controle biológico de pragas agrícolas é a escolha do hospedeiro alternativo adequado para criação massal do inimigo natural (PEREIRA *et. al.* 2010a,b). A utilização desses hospedeiros alternativos é vantajosa, devido ao seu baixo custo de produção, facilidade no processo, alta capacidade de reprodução e sem afetar a eficiência do inimigo natural no campo, como é o caso de *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae) (OTUKA *et. al.* 2006) que apresenta resultados satisfatórios para criação de parasitoides de pupas

(ZANUNCIO *et. al.* 2008; HERNÁNDEZ *et. al.* 2009; FAVERO *et. al.* 2013) e pupas de *Bombyx mori* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Bombycidae), apresentando uma produção de progênie superior, diretamente relacionada ao tamanho da pupa do hospedeiro alternativo comparado ao hospedeiro natural, sem a redução da sua eficácia de controle natural (PIÑEYRO *et. al.* 2016).

Além disso, a multiplicação massal e a liberação de agentes de controle biológico em programas de controle aplicado são muito importantes e podem ser viáveis economicamente, se executados de maneira e condições adequadas. Programas de controle biológico aplicados já são realidade na cultura da soja, com a utilização de baculovírus e de parasitoides de ovos de percevejos, no entanto, os desafios estão relacionados com a ampliação de sua importância e aplicação em todo o território nacional e a existência de novos programas a serem desenvolvidos (DINIZ *et. al.* 2008; BUENO *et. al.* 2012a; HOFFMANN-CAMPO *et. al.* 2012; PARRA 2014; BORTOLOTTO *et. al.* 2015; VAN LENTEREN *et. al.* 2018).

Parasitoides de lepidópteros-pragas desempenham grande potencial de sucesso e poderão, em um futuro muito próximo, serem utilizados em escala maior. O uso de agentes biológicos no controle de pragas agrícolas no Brasil tem aumentado consideravelmente nos últimos anos, e apesar desse fato não se conhecem os aspectos biológicos de *T. howardi* em suprimir o ciclo biológico de *A. gemmatalis*. Esse fato tem motivado a busca por técnicas de criação de parasitoides, visando ampliar os conhecimentos sobre a utilização de parasitoides para reduzir a densidade populacional desse lepidóptero-praga. Não há relatos na literatura de fêmeas de *T. howardi* parasitando lagartas de *A. gemmatalis*, fato este que torna o trabalho inédito.

O desempenho biológico já conhecido de fêmeas de *T. howardi* sobre lagartas de *D. saccharalis* (VARGAS *et. al.* 2011) e a versatilidade de parasitismo desse inimigo natural motivaram a realização de bioensaios com lagartas, pré-pupas e pupas de *A. gemmatalis* nesta pesquisa, pois se trata de um lepidóptero-praga de grande importância econômica para a cultura da soja no Brasil.

3. OBJETIVO GERAL[1]

Avaliar as características biológicas de *T. howardi* em lagartas de *A. gemmatalis* em laboratório e semi-campo e determinar a densidade de fêmeas mais adequadas para multiplicação de *T. howardi* em pré-pupas e pupas da lagarta-da-soja.

4. HIPÓTESES

1- *Tetrastichus howardi* parasita e se desenvolve em lagartas de 4º instar de *A. gemmatalis*;

2- *Tetrastichus howardi* consegue localizar e parasitar lagartas de 4º instar de *A. gemmatalis* em plantas de soja em condições de semi-campo;

3- Fêmeas de *T. howardi* desenvolvem-se e multiplicam-se com êxito em pré-pupas e pupas e do hospedeiro alternativo *A. gemmatalis*;

4- A densidade de fêmeas influencia diretamente os parâmetros biológicos da progênie oriunda do hospedeiro alternativo (lagarta, pré-pupa ou pupa) em condições de laboratório.

---

1 Esta Tese está de acordo com as "Normas para Redação de Dissertações e Teses" do Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade da Universidade Federal da Grande Dourados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR A.P., DEANS A.R., ENGEL M.S., FORSHAGE M., HUBER J.T., JENNINGS J.T., JOHNSON N.F., LELEJ A.S., LONGINO J.T., LOHRMANN V., MIKÓ I., OHL M., RASMUSSEN C., TAEGER A., YU D.S.K. 2013. Order Hymenoptera Linnaeus, 1758. (In: Animal biodiversity: An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness. Z.Q. ZHANG ed. Zootaxa): 51–62. DOI: http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.3703.1.12

ÁLVAREZ J.F., NARANJO F., GRILLO H. 2003. *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae): nuevo parásito pupal de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) en Cuba. Cent. Agríc. **30**: 86-88.

ÁLVAREZ J.F., NARANJO F., GRILLO H. 2007. Estudios sobre la bioecología, hábitos y comportamiento de *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae), parásito pupal de *Diatraea saccharalis* (Fab.) (Lepidoptera: Crambidae) en Cuba. (Primera parte). Cent. Agríc. **30**: 63-67.

AVANCI M.R.F., FOERSTER L.A., CANETE C.L. 2005.Natural parasitism in eggs of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera, Noctuidae) by *Trichogramma* spp. (Hymenoptera, Trichogrammatidae) in Brazil. Rev. Bras. entomol. **49**: 148-151. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/S0085-56262005000100017.

ÁVILA C.J., GRIGOLLI, J.F.J. 2014. Pragas da soja e seu controle. (In: Tecnologia e produção: soja 2013/2014. A.L.F. LOURENÇÃO, J.F.J. GRIGOLLI, A.M. MELOTTO, C. PITOL, D. DE C. GITTI, R. ROSCOE ed. Maracaju: Fundação MS. Cap. 6.): 109-168. File Online https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/985984/1/cap6.pdf (Accessed 22 Setembro 2018).

BAITHA A., JALALI S.K., RABINDRA R.J., VENKATESAN T., RAO N.S. 2004. Parasitizing efficiency of the pupal parasitoid, *Tetrastichus howardi* (Olli) (Hymenoptera: Eulophidae) on *Chilo partellus* (Swinhoe) at different exposure periods. J. Biol. Control. **18**: 65-68.

BAITHA A., MAURYA B.L. 2012. Reproductive biology of *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae): A gregarious pupal parasitoid. Indian J. Sugarc. Technol. **27**: 59-61.

BALBINOT-JUNIOR A.A, HIRAKURI M.H., FRANCHINI J.C., DEBIASI H., RIBEIRO R.H. 2017. Análise da área, produção e produtividade da soja no Brasil em duas décadas (1997-2016). Embrapa Soja, PR. Pp. 21. ISSN 2178-1680.

BARBOSA L.S., COURI M.S., COELHO V.M.A. 2008. Influência do aumento do número de pupas hospedeiras de *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae) no desenvolvimento do parasitoide *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae) em laboratório. Iheringia, Sér. Zool. **98**: 339-344. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/S0073-47212008000300008.

BARBOSA R.H., KASSAB S.O., PEREIRA F.F., ROSSONI C., COSTA D.P, BERNDT M.A. 2015. Parasitism and biological aspects of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Erinnyis ello* (Lepidoptera: Sphingidae) pupae. Cienc. Rural, **45**: 185-188.

BARBOSA R.H., ZANUNCIO J.C., PEREIRA F.F., KASSAB S.O., ROSSONI C. 2016. Foraging activity of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) at various densities on pupae of the eucalyptus defoliator *Thyrinteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae). Fla. Entomol. **99**: 121-127. DOI: https://doi.org/10.1653/024.099.0417

BARRAT B.I.P., HOWARTH F.G., WITHERS T.M., KEAN J.M., RIDLEY G.S. 2010. Progress in risk assessment for classical Biol. Control. **52**: 245-254.

BATISTELA M.J., BUENO A.F., NISHIKAWA M.A.N., BUENO R.C.O.F., HIDALGO G., SILVA L., CORBO E., SILVA R.B. 2012 Re-evaluation of leaf-lamina consumer thresholds for IPM decisions in short-season soybeans using artificial defoliation. Crop Prot. **32**: 7-11.

BORTOLOTTO O.C., FERNANDES A.P., BUENO R.C.O.F., BUENO A.F., KRUZ Y.K.S., QUEIROZ A.P., SANZOVO A., FERREIRA R.B. 2015. O uso do manejo integrado de pestes de soja no Brasil: uma revisão. Agron. Sci. Biotechnol. **1**: 25-32.

BUENO A.F., PANIZZI A.R., CORRÊA-FERREIRA B.S., HOFFMANNCAMPO C.B., SOSA-GÓMEZ D.R., GAZZONI D.L., HIROSE E., MOSCARDI F., CORSO I.C., OLIVEIRA L.J., ROGGIA S. 2012a. Histórico e evolução do manejo integrado de pragas da soja no Brasil. (In: Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. C.B. HOFFMANN-CAMPO, CORRÊA-FERREIRA B.S., MOSCARDI F. ed. Brasília: Embrapa): 37-74.

BUENO A.F., PAULA-MORAES S.V., GAZZONI D.L., POMARI A.F. 2013. Economic Thresholds in Soybean-Integrated Pest Management: Old Concepts, Current Adoption, and Adequacy. Neotrop. Entomol. **42**: 439-447. DOI: https://doi.org/10.1007/s13744-013-0167-8

BUENO A.F., SOSA-GÓMEZ D.R., CORRÊA-FERREIRA B.S., MOSCARDI F., BUENO R.C.O.F. 2012b. Inimigos naturais das pragas da soja. (In: Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. C.B. HOFFMANN-CAMPO, CORRÊA-FERREIRA B.S., MOSCARDI F. ed. Brasília: Embrapa): 493-629.

CÂMARA G.M.S. 1998. Soja: tecnologia da produção. Piracicaba, Brasil. Pp. 293.

CAÑETE C.L., FOERSTER L.A. 2003. Incidência natural e biologia de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em ovos de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera, Noctuidae). Rev. Bras. Entomol. **47**: 201–204.

CANTOR F., CURE J.R., LÓPEZ-ÁVILA A. 2006. Hymenoptera «Parasitica» como agentes de control biológico en Colombia. (In: Introducción a los Hymenoptera de la Región Neotropical. F. FERNÁNDEZ, SHARKEY, M.J. eds. Sociedad Colombiana de Entomología y Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. Cap.8): 143-172.

CARMO E.L., BUENO A.F., BUENO R.C.O.F. 2010. Pesticide selectivity for the insect egg parasitoid *Telenomus remus*. Bio. Control. **55**: 455-464.

CARVALHO M.M., BUENO R.C.O.F., CARVALHO L.C., FAVORETO A.L., GODOY A.F. 2013. Potencial do controle biológico para o controle de *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) e *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera:

Noctuidae) em soja. Enciclopédia Biosfera. **9**: 2049-2036. File Online http://hdl.handle.net/11449/137603 (Accessed 10 Março 2018).

CASTANHEIRA E.G., GRISOLI R., COELHO S., SILVA G.A., FREIRE F. 2015. Life-cycle assessment of soybean-based biodiesel in Europe: comparing grain, oil and biodiesel import from Brazil. J. Cleaner Prod. **102**: 188-201.

CHERIAN M.C., SUBRAMANIAM C.K. 1940. *Tetrastichus ayyari* Rohw. A pupal parasite of some moth borers in South India. Indian J. Ent. **2**: 75-77.

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

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

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

CHOUNG C.B., HYNE R.V., STEVENS M.M., HOSE G.C. 2010. A low concentration of atrazine does not influence the acute toxicity of the insecticide terbufos or its breakdown products to *Chironomus tepperi*. Ecotoxicology. **19**: 1536-1544.

COLL M., WAJNBERG E. 2017. Environmental Pest Management: Challenges for Agronomists, Ecologists, Economists and Policymakers. John Wiley & Sons. Pp. xv+448.

CONAB. 2018. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos: quarto levantamento, Safra 2018/18, v. 6, n. 4. Brasília. Pp. 140. File Online https://www.conab.gov.br/index.php/info-agro/safras/graos (Accessed: 10 Janeiro 2019).

CORRÊA B.S., PANIZZI A.R., NEWMAN G.G., TURNIPSEED S.G. 1977. Distribuição geográfica e abundância estacional dos principais insetos-pragas da soja e seus predadores. An. Soc. Entomol. Bras. **6**: 40-50.

COSTA D.P., PEREIRA F.F., KASSAB S.O., ROSSONI C., FAVERO K., BARBOSA R.H. 2014. Reprodução de *Tetrastichus howardi* em pupas de *Diatraea saccharalis* de diferentes idades. Rev. Ciênc. Agrár. **57**: 67-71. DOI: http://dx.doi.org/10.4322/rca.2013.067

CRUZ I., REDOAN A.C., SILVA R.B.D., FIGUEIREDO M.D.L.C., PENTEADO-DIAS A.M. 2011. New record of *Tetrastichus howardi* (Olliff) as a parasitoid of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) on maize. Sci. Agric. **68**: 252-254. DOI: 10.1590/S0103-90162011000200017.

DE ABREU J.A.S., ROVIDA A.F.S., CONTE H. 2018. Controle biológico por insetos parasitoides em culturas agrícolas no Brasil: revisão de literatura. Uningá Rev. **22**: 22-25. File Online http://revista.uninga.br/index.php/uningareviews/article/view/1626 (Accessed 16 Outubro 2018).

DI MARZIO W.D., SAENZ M.E., ALBERDI J.L., FORTUNATO N., CAPPELO V., MONTIVERO C., AMBRINI G. 2010. Environmental impact of insecticides applied on biotech soybean crops in relation to the distance from aquatic ecosystems. Environ. Toxicol. Chem. **29**: 1907-1917.

DINIZ F.R., RODRIGUES K.F., ROSSI M.M. 2008. Produção do parasitoide *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) para controle biológico da broca da cana-de-açúcar (*Diatraea saccharalis*) (Lepidoptera: Crambidae). Nucleus. Edição especial: 39-48. DOI: http://dx.doi.org/10.3738/nucleus.v5i2.86

DUDCZAK A.C., QUERINO R.B., FOERSTER M.R., FOERSTER L.A. 2017. First Occurrence of *Trichogramma bruni* Nagaraja (Hymenoptera: Trichogrammatidae) Parasitizing Eggs of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Erebidae) in Brazil. Neotrop. Entomol. **46**: 471-472. DOI: https://doi.org/10.1007/s13744-017-0521-3.

DUONG C.A., DIEP D.N., HUNG H.Q. 2011. Survey of sugarcane moth borers in southeast Vietnan. Int. Sugar J. **113**: 732–737.

EMBRAPA SOJA. 2014. História: Histórico no Brasil, 2014. File Online https://www.embrapa.br/en/soja/cultivos/soja1/historia (Accessed 03 Dezembro 2017).

EMPRAPA. 2018. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Soja em números (safra 2016/2017). File Online https://www.embrapa.br/web/portal/soja/cultivos/soja1/dados-economicos (Accessed 10 Março 2018).

FAVERO K., PEREIRA F.F., KASSAB S.O., OLIVEIRA H.N., COSTA D.P., ZANUNCIO J.C. 2013. Biological characteristics of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) are influenced by the number of females exposed per pupa of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). Fla. Entomol. **96**: 583-589. DOI: https://doi.org/10.1653/024.096.0224

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

FERNANDES D.R.R., QUERINO R.B., HAMADA N. 2019. Order Hymenoptera. (In: Keys to Neotropical Hexapoda: Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates N. Hamada, Thorp J., Rogers D.C. eds. Academic Press, USA): 339–347. Doi:10.1016/b978-0-12-804223-6.00012-3

FERREIRA B.S.C., PANIZZI A.R. 1978. Distribuição de ovos e lagartas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner em plantas de soja. An. Soc. Entomol. Bras. **7**: 54-59.

FOERSTER L.A., AVANCI M.R.F. 1999. Parasitoides de ovos de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) em soja. Soc. Entomol. Brasil. **28**: 545–548.

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

FORMENTINI A.C., SOSA-GÓMEZ D.R., PAULA-MORAES S.V., BARROS N.M., SPECHT A. 2015. Lepidoptera (Insecta) associated with soybean in Argentina, Brazil, Chile and Uruguay. Cienc. Rural. **45**: 2113–2120.

FOUAD H.A., FARONI L.R.D., RIBEIRO R.C., TAVARES W.S., PETACCI F. 2012. Extraction and repellent activity of *Lepidoploa aurea* and *Memora nodosa* against stored grain and by product pests. Vie et Milieu - Life and Environment. **62**: 11-15.

GADALLAH N.S., YEFREMOVA Z.A., YEGORENKOVA E.N., SOLIMAN A.M., EL-GHIET U.M.A., EDMARDASH Y.A., EDMARDASH Y.A. A review of the family Eulophidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) of Egypt, with thirty three new records. Zootaxa **4058**: 66–80. DOI:10.11646/zootaxa.4058.1.3.

GARCIA A. 2003. Cenário da soja orgânica no Brasil. (In: Soja Orgânica: alternativas para o manejo dos insetos-pragas. B.S. CORRÊA-FERREIRA org. Londrina: Embrapa Soja): 11-14.

GAULD I., BOLTON B. 1988. The Hymenoptera. Oxford University Press, New York. Pp.332.

GAUTHIER N., LA SALLE J., QUICKE D.L.J., GODFRAY H.C.J. 2000. Phylogeny of Eulophidae (Hymenoptera: Chalcidoidea), with a reclassification of Eulophinae and the recognition that Elasmidae are derived eulophids. Systematic Entomol. **25**: 521–539. DOI:10.1046/j.1365-3113.2000.00134.x

GAZZONI D.L. 2012. Perspectivas do manejo de pragas. (In: Soja: Manejo Integrado de Insetos e Outros Artrópodes-Praga. C.B. HOFFMANN-CAMPO, CORRÊA-FERREIRA B.S., MOSCARDI F. eds. Embrapa, Brasília): pp 791–829.

GAZZONI D.L., OLIVEIRA E.B., CORSO I.C., CORRÊA-FERREIRA B.S., VILLAS BOAS G.L., MOSCARDI F., PANIZZI A.R. 1981. Manejo de pragas da soja. Londrina: Embrapa-CNPSo. Embrapa-CNPSo. Circular Técnica, 5. Pp.44.

GAZZONI D.L., SOSA-GÓMEZ D.R., MOSCARDI F., HOFFMANN-CAMPO C.B., CORRÊA-FERREIRA B.S., OLIVEIRA L.J., CORSO I.C. 1994. Insects. (In: Tropical

soybean: improvement and production. EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja): 81-108.

GIBSON G.A.P., HERATY J.M., WOOLLEY J.B. 1999. Phylogenetics and classification of Chalcidoidea and Mymarommatoidea—a review of current concepts (Hymenoptera, Apocrita). Zool. Scr. **28**: 87–124.

GODFRAY H.C.J. 1994. Parasitoids: Behavioral and Evolutionary Ecology. Princeton University Press, Princeton, NJ, USA. Pp. 488.

GONZÁLEZ J.F.A., OCA F.N.M., RAVELO H.G. 2003; Estudios bioecológicos de *Tetrastichus howardi* Olliff. (Hymenoptera: Eulophidae), parásito pupal de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) en Cuba. (Primera parte). Centro Agricola. **30**: 37-41.

GREENE G.L., REID J.C., BLOUNT V.N., RIDDLE T.C. 1973. Mating and oviposition behavior of the velvetbean caterpillar in soybeans. Environ. Entomol. **2**: 1113-1115.

HANSON P.E., GAULD I.D. 1995. The biology of hymenoptera. Natural history. (In: The Hymenoptera of Costa Rica. P.E. HANSON, GAULD I.D. eds. Oxford University Press, New York): 20-28.

HARVEY J.A., MALCICKA M. 2016. Nutritional integration between insect hosts and koinobiont parasitoids in an evolutionary framework. Entomol. Exp. Appl. **159**: 181-188. DOI: 10.1111/eea.12426

HARVEY J.A., POELMAN E.H., TANAKA, T. 2013. Intrinsic Inter- and Intraspecific Competition in Parasitoid Wasps. Annu. Rev. Entomol. **58**: 333-351. DOI: https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153622

HEIMPEL G.E., MILLS N.J. 2017. Biol. Control – Ecology and Applications. Cambridge University Press. Pp. x+530.

HENCHION M., McCARTHY M., RESCONI V.C., TROY D. 2014. Meat consumption: trends and quality matter. Meat Sci. **98**: 561-568

HERATY J.M. 2017. Parasitoid biodiversity and insect pest management. (In: Insect Biodiversity: Science and Society. B. FOOTTIT, ADLER, P. eds. Springer-Verlag, The Hague): 603–625.

HERNÁNDEZ J.V., OSBORN F., HERRERA B., LIENDO-BARANDIARAN C.V., PEROZO J., VELÁSQUEZ D. 2009. Parasitoides Larva-Pupa de *Hylesia metabus* Cramer (Lepidoptera: Saturniidae) en la Región Nororiental de Venezuela: un Caso de Control Biológico Natural. Neotrop. Entomol. **38**: 243-250.

HIRAKURI M.H., OLIVEIRA A.B., TAVARES L.C.V., SEIXAS C.D.S., PASTORE A. 2011. Avaliação econômica do cultivo orgânico de soja no Estado do Paraná para a safra 2010/11. Embrapa Soja. Londrina, Paraná (Circular Técnica nº85). 9.p. File Online http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/35972/1/CT85.pdf. (Accessed 22 Setembro 2018).

HOFFMANN-CAMPO C.B., CORRÊA-FERREIRA B.S., MOSCARDI F. 2012. Soja: Manejo Integrado de Insetos e outros Artrópodes-Pragas. Embrapa Soja. Brasília, DF. Pp. 859.

HOFFMANN-CAMPO C.B., MOSCARDI F., CORRÊA-FERREIRA B.S., OLIVEIRA L.J., SOSA-GÓMEZ D.R., PANIZZI A.R., CORSO I.C., GAZZONI D.L., OLIVEIRA E.B. 2000. Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado. Londrina: Embrapa-CNPSo (Circular Técnica, 30). 70 p.

HOMRICH M.S., PASSAGLIA L.M.P., PEREIRA J.F., BERTAGNOLLI P.F., SALVADORI J.R., NICOLAU M., KALTCHUK-SANTOS E., ALVES L.B., BODANESE-ZANETTINI M.H. 2008. Agronomic performance, chromosomal stability and resistance to velvetbean caterpillar of transgenic soybean expressing *cry1Ac* gene. Pesq. Agropec. Bras. **43**: 801–807.

IBGE. 2018. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola - fevereiro 2018. File Online https://sidra.ibge.gov.br/home/lspa/brasil (Accessed 10 Março 2018).

JERVIS M.A., FERNS P.N. 2011. Towards a general perspective on life-history evolution and diversification in parasitoid wasps. Biol. J. Linn. Soc. **104**: 443–461.

KFIR R. 1997. Parasitoids of *Plutella xylostella* (Lep.: Plutellidae) in South Africa: An annotated list. Entomophaga **42**: 517-523.

KFIR R. 2001. Prospects for biological control of *Chilo partellus* in grain crops in South Africa. Insect Sci. Appl. **21**: 275-280. DOI: https://doi.org/10.1017/S1742758400008353

KFIR R., GOUWS J., MOORE S. 1993. D. Biology of *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae): a facultative hyperparasitoid of stem borers. Biocontrol Sci. Techn. **3**: 149-159.

KOGAN M. 1998. Integrated pest management: historical perspectives and contemporary developments. Annu. Rev. Entomol. **43**: 243-270.

KUMAR A., BAITHA A., BARELIYA P.K. 2016a. Some biological aspects of pupal parasitoid, *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) on *Chilo auricilius* (Dudgeon) pupae. Curr. Biot. **10**: 170-174.

KUMAR A., BAITHA A., PANDEY R.K., BARELIYA P.K., KUMAR A. 2016b. Effect of female vs. male pupa of *Scirpophaga excerptalis* Walker on reproductive potential of *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hynenoptera: Eulophidae). Agrica. **5**: 103-106. DOI 10.5958/2394-448X.2016.00013.4

LA SALLE J. 1994. North American genera of Tetrastichinae (Hymenoptera: Eulophidae). J. Nat. Hist. **28**: 109-236.

LA SALLE J. 2005. Biology of Gall Inducers and Evolution of Gall Induction in Chalcidoidea (Hymenoptera: Eulophidae, Eurytomidae, Pteromalidae, Tanaostigmatidae, Torymidae). (In: Biology, Ecology, and Evolution of Gall-inducing Arthropods. R. ANANTANARAYANAN, SCHAEFER C.W., WITHERS T.M. eds. Science Publishers, Enfield): 507–537.

LA SALLE J., POLASZEK, A. 2007. Afrotropical species of the *Tetrastichus howardi* species group (Hymenoptera: Eulophidae). African Entomol. **15**: 45-56. DOI: 10.4001/1021-3589-15.1.45

LEE J.H., JOHNSON S.J. 1990. Microhabitat distribution of velvetbean caterpillar (Lepidoptera: Noctuidae) pupae in soybean fields in Louisiana. Environm. Entomol. **19**: 740-745.

LIAO Y.L., LI Y.F., ZHANG Z.F., XIAO H.X., LI Y.F., ZHANG Y., WU W.J. 2013. New record of *Tetrastichus howardi* Olliff as pupal parasitoid of *Chilo auricilia*. J. Environ. Entomol. **36**: 408–411.

LOURENÇÃO A.L., RECO P.C., BRAGA N.R., VALLE G.E., PINHEIRO J.B. 2010. Produtividade de genótipos de soja sob infestação da lagarta-da-soja e de percevejos. Neotrop. Entomol. **39**: 275-281.

MAGRINI E.A., BOTELHO P.S.M., SILVEIRA NETO, S. 1999. Biologia de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 na cultura de soja, *Glycine max* (L.) Merril. Sci. Agric. **56**: 527-535.

MAIA V.C. 2012. Richness of hymenopterous galls from South America. Pap. Avul. Zool. **52**: 423-429. DOI http://dx.doi.org/10.1590/S0031-10492012021500001.

MARTINS G.L.M., TOSCANO L.C., TOMQUELSKI G.V., MARUYAMA W.I. 2009. Inseticidas no controle de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) e impacto sobre aranhas predadoras em soja. Rev. Bras. Ciênc. Agrár. **4**: 128-132.

MASON P.G., CLERCQ P., HEIMPEL G.E., KENIS M. 2008. Attributes of Biological Control agents against arthropods: what are we looking for? (In: 3rd International Symposium on Biol. Control of Arthropods. Forest Service, USDA): 385-392.

MAUAD M., SILVA T.L.B., ALMEIDA NETO A.I., ABREU V.G. 2010. Influência da densidade de semeadura sobre características agronômicas na cultura da soja. Rev. Agrarian. **3**: 175–181.

MAYHEW P.J. 2016. Comparing parasitoid life histories. Entomol. Exp. Appl. **159**: 147-162.

MEISSLE M., MOURON P., MUSA T., BIGLER F., PONS X., VASILEIADIS V.P., OTTO S., ANTICHI D., KISS J., PÁLINKÁS Z., DORNER Z., VAN DER WEIDE R., GROTEN J., CZEMBOR E., ADAMCZYK J., THIBORD J.B., MELANDER B.,

CORDSEN NIELSEN G., POULSEN R.T., ZIMMERMANN O., VERSHWELE A. OLDENBURG E. 2010. Pest, pesticides use and alternative op¬tions in European maize production: current status and future prospects. J. Appl. Entomol. **134**: 357-375.

MENDONÇA E.G., OLIVEIRA M.G.A., VISÔTTO L.E., GUEDES R.N.C., RIBEIRO F.R., OLIVEIRA J.A. 2009. Determinação da atividade enzimática e do número de bactérias associadas ao intestino médio da lagarta da soja, *Anticarsia gemmatalis*, criada em diferentes dietas. Rev. Ceres. **56**: 18-24

MESQUITA A.L.M., LACEY L.A. 2001. Interactions among the entomopathogenic fungus, *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes), the parasitoid *Aphelinus asychis* (Hymenoptera: Aphelinidae) and their aphid host. Biol. Control. **22**: 51–59. DOI: http://dx.doi.org/10.1006/bcon.2001.0950.

MILANO P., BERTI FILHO E., PARRA J.R.P., CÔNSOLI F.L. 2008. Influência da temperatura na frequência de cópula de *Anticarsia gemmatalis* Hübner e *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Neotrop. Entomol. **37**: 528-535.

MILWARD-DE-AZEVEDO E.M.V., SERAFIN I., PIRANDA E.M., GULIAS-GOMES C.C. 2004. Desempenho reprodutivo de *Nasonia vitripennis* Walker (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas crioconservadas de *Chrysomia megacephala* Fabricius (Diptera: Calliphoridae): avaliação preliminar. Cienc. Rural. **34**: 207-211.

MOHYUDDIN A.I. 1990. Biological Control of *Chilo* spp. in maize, sorghum and millet. Insect Sci. Appl. **11**: 721-732.

MOORE S.D., KFIR R. 1995. Aspects of the biology of the parasitoid, *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae). J. African Zool. **109**: 455-466. File online http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=BE9600593 (Accessed 23 February 2013).

MOSCARDI F., BUENO A.F., SOSA-GÓMEZ D.R., ROGGIA S., HOFFMAN-CAMPO C.B., POMARI A.F., CORSO I.V., YANO S.A.C. 2012. Artrópodes que atacam as folhas da soja. (In: Soja: Manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. C.B. HOFFMAN-CAMPO, CORRÊA-FERREIRA B.S., MOSCARDI F. ed. Brasília: Embrapa. cap.4): 213-334.

MOSCARDI F., SOUZA, M.L. 2002. Baculovírus para o controle de pragas: panacéia ou realidade. Biotec. Ciênc. Desenvolv. **24**: 22-29.

MOURÃO S.A., ZANUNCIO J.C., TAVARES W.S., WILCKEN C.F., LEITE G.L. D., SERRÃO J.E. 2014. Mortality of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) caterpillars post exposureto a commercial neem (*Azadirachta indica*, Meliaceae) oil formulation. Fla. Entomol. **97**: 555-561. DOI: http://dx.doi.org/10.1653/024.097.0229.

MUNRO J.B., HERATY J.M., BURKS R.A., HAWKS D., MOTTERN J., CRUAUD A., RASPLUS J.Y., JANSTA P.A. 2011. Molecular Phylogeny of the Chalcidoidea (Hymenoptera). PLoS One. **6**: 27-23.

NIEVES-ALDREY J.L., ASKEW R.R. 2011. Two new species of Tetrastichinae (Hymenoptera: Eulophidae) from Spain, the first native European gall inducing tetrastichine and its parasitoid. Ann. Soc. Entomol. Fr. **47**: 154–161.

NOYES J.S. 2004. Universal Chalcidoidea Database. World Wide Web electronic publication. File Online http://www.nhm.ac.uk/chalcidoids. (Accessed 16 Setembro 2018).

OLIVEIRA H.N., SIMONATO J., GLAESER D.F., PEREIRA F.F. 2016. Parasitismo of *Helicoverpa armigera* pupae (Lepidoptera: Noctuidae) by *Tetrastichus howardi* and *Trichospinus diatraeae* (Hymenopetra: Eulophidae). Semin. Ciên. Agrár. **37**: 111-115. DOI: http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n1p111

OTUKA A.K., VACARI A.M., MARTINS M.I.E.G., DE BORTOLI S. A. 2006. Custo de produção de *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae) criado com diferentes presas. O Biológico. **68**: 224–227.

PANIZZI A.R. 2006. O manejo integrado de pragas (MIP): O necessário revigoramento de uma tecnologia que deu certo. (In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 4. Goiânia. Anais. CD-Rom).

PANIZZI A.R. 2013. History and Contemporary Perspectives of the Integrated Pest Management of Soybean in Brazil. Neotrop. Entomol. **42**: 119-127.

PANIZZI A.R., OLIVEIRA L.J., SILVA J.J. 2004. Survivorship, larval development and pupal weight of *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) feeding on potential leguminous host plants. Neotrop. Entomol. **33**: 563-567. DOI: 10.1590/S1519- 566X2004000500004

PARRA J.R.P. 2001. Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico. 6. ed. Piracicaba: Esalq/Fealq. Pp. 137.

PARRA J.R.P. 2006. A prática do controle biológico de pragas no Brasil. (In: Controle biológico de pragas na prática. A.S. PINTO, NAVA D.E., ROSSI M.M., MALERBO-SOUZA D.T. ed. Piracicaba: Prol.): 11-24.

PARRA J.R.P. 2014. Biological Control in Brazil: An overview. Sci. Agric. **71**: 345-355.

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

PASTORI P.L., ZANUNCIO J.C., PEREIRA F.F., PRATISSOLI D., CECON P.R., SERRÃO J.E. 2013. Temperatura e tempo de refrigeração de pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) afetam parâmetros biológicos de *Trischospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae)?. Semina. Ciênc. Agrárias. **34**: 1493-1508.

PEDIGO L.P., HUTCHINS S.H., HIGLEY L.G. 1986. Economic Injury Levels in Theory and Practice. Annu. Rev. Entomol. **31**: 341-68.

PEDLOWSKI M.A., CANELA M.C., TERRA M.A.C., FARIA R.M.R. 2012. Modos de utilização de agrotóxicos por pequenos produtores brasileiros e suas implicações para a saúde humana e o meio ambiente. Crop. Prot. **31**: 113–118.

PEREIRA F.F., KASSAB S.O., CALADO, V.R.F., VARGAS, E.L., OLIVEIRA H.N., ZANUNCIO J.C. 2015. Parasitism and emergence of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) larvae, pupae and adults. Fla. Entomol. **98**: 377-380.

PEREIRA F.F., ZANUNCIO J.C., PASTORI P.L., PEDROSA A.R., OLIVEIRA H.N. 2010a. Parasitismo de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) em hospedeiro alternativo sobre plantas de eucalipto em semi-campo. Rev. Ciênc. Agron. **41**:715-720. DOI: 10.1590/S1806-66902010000400028.

PEREIRA F.F., ZANUNCIO J.C., SERRÃO J.E., OLIVEIRA H.N., FAVERO K., GRANCE E.L.V. 2009. Progênie de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenopetera: Eulophidae) parasitando pupas de *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) de diferentes idades. Neotrop. Entomol. **38**: 660-664.

PEREIRA F.F., ZANUNCIO J.C., SERRÃO J.E., ZANUNCIO T.V., PRATISSOLI D., PASTORI P.L. 2010b. The density of females of *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). An. Acad. Bras. Cienc. **82**: 323-331. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/S0001-37652010000200008

PESSOA M.C.P.Y., MARINHO-PRADO J.S., MINGOTI R., PRADO S.S., LOVISI FILHO E., SÁ L.A.N., SPADOTTO C.A., FARIAS A.R. 2016. Avaliação de potencial desenvolvimento de *Chilo partellus* (Swinhoe) (Lepidoptera: Pyralidae) e de três bioagentes de controle exóticos em condições climáticas da Região Norte do Brasil - Estados do Amapá e Roraima. Campinas, SP: Embrapa Gestão Territorial. Pp.2.

PETERS R.S., NIEHUIS O., GUNKEL S., BLÄSER M., MAYER C., PODSIADLOWSKI L., KOZLOVH A., DONATHF A., VAN NOORTI S., LIUJ S., ZHOUM X., MISOFF B., HERATYO J., KROGMANN L. 2018. Transcriptome sequence-based phylogeny of chalcidoid wasps (Hymenoptera: Chalcidoidea) reveals a history of rapid radiations, convergence, and evolutionary success. Mol. Phylogenet. Evol. **120**: 286–296. DOI:10.1016/j.ympev.2017.12.005.

PIÑEYRO N.G., PEREIRA F.F., BORGES F.L.G., ROSSONI C., SILVA A.S., KASSAB S.O. 2016. ¿Multiplicar *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) en la oruga de la seda afecta su biología?. Acta biol. Colomb. **21**: 189-193. DOI: http://dx.doi.org/10.15446/abc.v21n1.47999.

POLASZEK A., FOERSTER L.A. 1997. *Telenomus cyamophylax*, n. sp. (Hymenoptera: Scelionidae) atacando ovos da lagarta-da- soja, *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). Soc. Entomol. Brasil. **26**: 177–181.

PRAÇA L.B., SILVA NETO S.P., MONNERAT R.G. 2006. *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae): biologia, amostragem e métodos de controle. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos 196). Pp. 18.

PRASAD K.S., ARUNA A.S., KUMAR V., KARIAPPA B.K. 2007, Feasibility of mass production of *Tetrastichus howardi* (Olli), a parasitoid of leaf roller (*Diaphania pulverulentalis*), on *Musca domestica* (L.). Indian J. Sericicult. **46**: 89-91.

PRATISSOLI D., ZANUNCIO J.C., BARROS R., DE OLIVEIRA H.N. 2002. Leaf consumption and duration of instars of the cassava defoliator *Erinnyis ello* (L., 1758) (Lepidoptera, Sphingidae). Rev. Bras. de Entomol. **46**: 251-254.

QUICKE D.L.J. 1997. Parasitic Wasps. Chapman & Hall, New York, NY, USA. Pp. xvi+470.

QUICKE D.L.J. 2015. The Braconid and Ichneumonid Parasitoid Wasps: Biology, Systematics, Evolution and Ecology. Wiley-Blackwell, Oxford, UK. Pp. 704.

RAHMAN K., BRIDGES W.C., CHAPIN J.W. THOMAS J.S. 2007. Three cornered alfalfa hopper (Hemiptera: Membracidae): seasonal occurrence, girdle distribution, and response to insecticide treatment on peanut in South Carolina. J. Econ. Entomol. **100**: 1229-1240. DOI: 10.1603/0022- 0493(2007)100[1229:TAHHMS]2.0.CO;2

RAO G.M.V.P., RAMANI S., SINGH S.P. 2001. Field parasitization of maize stem borer, *Chilo partellus* (Swinhoe) (Lepidoptera: Pyralidae) in Bangalore. J. Biol. Control. **15**: 193-195.

RAO V.P. 1965. Natural enemies of rice stem borers and allied species in various parts of the world and possibilities of their use in Biol. Control of rice stem borers in Asia. Commonwealth Inst. Biol. Control Tech. **6**: 1-68.

RIGO A.A., DAHMER A.M., STEFFENS C., STEFFENS J., CARRÃO-PANIZZI M.C. 2015. Characterization of soybean cultivars genetically improved for human consumption. Int. J. Food Eng. **1**: 1-7.

RIGOTTO R.M., VASCONCELOS D.P., ROCHA M.M. 2014. Uso de agrotóxicos no Brasil e problemas para a saúde pública. Cad. Saúde Públ. **30**: 1360–1362.

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

SAGARRA L.A., VICENT C., STEWART R.K. 2001. Body size as an indicator of parasitoid quality in male and female *Anagyrus kamali* (Hymenoptera: Encyrtidae). Bull. Entomol. Res. **91**: 363-367.

SAMPAIO M.V., BUENO V.H.P., PÉREZ-MALUF E.R. 2001. Parasitismo de *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Aphidiidae) em diferentes densidades de *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). Neotrop. Entomol. **30**: 81-87.

SANKAR M., JAIGEETHA S., RAO M.S. 2014. Exploitation of Biocontrol Agents, *Trichogramma chilonis* and *Tetrastichus howardi* on Yield Improvement in Sugarcane at EID Parry (India) Ltd., Sugar Mill Command Areas. Int. J. Innov. Res. Dev. **3**: 314-318.

SANTOS A.M.C., QUICKE D.L.J. 2011. Large-scale diversity patterns of parasitoid insects. Entomol. Sci. **14**: 371–382.

SAVIO G.M., PINOTTI E.B. 2008. Controle biológico da lagarta-da-soja (*Anticarsia gemmatalis*) por *Baculovirus anticarsia*. Ver. Cient. Elet. Agron. **7**: 23-30.

SHIMBORI E.M., ONODY H.C., FERNANDES D.R.R., SILVESTRE R., TAVARES M.T., PENTEADO-DIAS A.M. 2017. Hymenoptera “Parasitica” in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. Iheringia, Sér. Zool. [online]. **107**: 1-12. DOI: https://dx.doi.org/10.1590/1678-4766e2017121.

SILVA A.B., BRITO J.M. 2015. Controle biológico de insetos-pragas e suas perspectivas para o futuro. Rev. Agrotec. **36**: 248-258.

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

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

SOSA-GÓMEZ D.R. 2012. Seletividade de agroquímicos para fungos entomopatogênicos. File Online http://www.cnpso.embrapa.br/download/artigos/seletiv_fung.pdf. (Acessed 23 March 2016).

SOSA-GÓMEZ D.R., CORRÊA-FERREIRA B.S., HOFFMANN-CAMPO C.B., CORSO I.C., OLIVEIRA L.J., MOSCARDI F., PANIZZI A.R., BUENO A.F., HIROSE E. 2010. Manual de identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja. Londrina: Embrapa-CNPSo (Documentos, 269). Pp. 90.

SOSA-GÓMEZ D.R., DELPIN K.E., MOSCARDI F., NOZAKI M.H. 2003. The impact of fungicides on *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson epizootics and on populations of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), on soybean. Neotrop. Entomol. **32**: 287-291.

SRIKANTH J. A. 2016. 100 years of Biol. Control of sugarcane pests in India: review and perspective. CAB Reviews Perspect. Agric. Vet. Sci. Nutrit. Nat. Resour. **11**: 1–32. DOI: 10.1079/PAVSNNR201611013

VAN LENTEREN J.C. 2012. The state of commercial augmentative Biol. Control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. Bio. Control. **57**: 1-20.

VAN LENTEREN J.C., BOLCKMANS K., KÖHL J., RAVENSBERG W.J., URBANEJA A. 2018. Bio. Control. **63**: 39–59. DOI: https://doi.org/10.1007/s10526-017-9801-4.

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

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

WU S., YOUNGMAN R.R., KOK L.T., LAUB C.A., PFEIFFER D.G. 2014. Interaction between entomopathogenic nematodes and entomopathogenic fungi applied to third ínstar southern masked chafer white grubs, *Cyclocephala lurida* (Coleoptera: Scarabaeidae), under laboratory and greenhouse conditions. Biol. Control. **76**: 65–73. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2014.05.002.

YEFREMOVA Z. 2008. Order Hymenoptera, family Eulophidae. Arthropod fauna UAE. **1**: 345-360.

ZANUNCIO J.C., PEREIRA F.F., JACQUES G.C., TAVARES M.T., E SERRÃO J.E. 2008. *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae), a new alternative host to rear the pupae parasitoid *Palmistichus elaeisis* Delvare & Lasalle (Hymenoptera: Eulophidae). Coleopt. Bull. **62**: 64–66.

ZHENG Y.H., ZHENG L.X., LIAO Y.L., WU W.J. 2016. Sexual dimorphism in antennal morphology and sensilla ultrastructure of a pupal endoparasitoid *Tetrastichus howardi* Olliff (Hymenoptera: Eulophidae). Micros. Res. Tech. **79**: 374–384.

Capítulo I

Parasitismo e desenvolvimento de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em lagartas de *Anticarsia gemmatalis* expostas a diferentes densidades do parasitoide

RESUMO[2]

Tetrastichus howardi (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide larval e pupal de lepidópteros-praga e tem sido objeto de estudo como agente potencial a ser utilizado em programas de controle biológico com ênfase em pragas-chaves de diferentes culturas de importância econômica. Objetivou-se avaliar as características biológicas de *T. howardi* em lagartas de quarto ínstar de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Erebidae), com diferentes densidades de fêmea do parasitoide em condições de laboratório e semi-campo. O experimento foi conduzido no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL), e o ensaio de semi-campo realizado em casa-de-vegetação na Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). No laboratório, lagartas foram individualizadas em placas de Petri contendo dieta e expostas ao parasitismo por diferentes densidades (1:1, 5:1, 10:1, 15:1, 20:1 ou 25:1, parasitoide: hospedeiro) por um período de 96 horas. Em semi-campo, 4 lagartas foram distribuídas por vaso, contendo duas plantas de soja, individualizadas em gaiolas (80 x 50 cm). Posteriormente, foram liberadas 4, 20, 40, 60, 80 ou 100 fêmeas de *T. howardi*, representando as mesmas proporções utilizadas no laboratório, permanecendo nessas condições por um período de 96 horas. Após o parasitismo, as fêmeas foram removidas e as lagartas foram individualizadas em placas de Petri contendo uma porção de dieta de alimentação até a morte ou até a emergência da progênie, permanecendo em câmara climatizada (BOD) a 25±1ºC, 70±10% de UR e fotofase de 14 horas. A porcentagem de parasitismo de *T. howardi* em lagartas de *A. gemmatalis* variou de 56,00±7,48 (densidade 1:1) a 92,00±8,00 (densidade 25:1) em condições de laboratório. A porcentagem de emergência, progênie total e longevidade de machos e fêmeas foram semelhantes entre os tratamentos, com valores de 72,07±5,75%, 188,48±33,97, 13,23±0,87 e 9,48±0,41 dias, respectivamente. A duração do ciclo biológico (ovo-adulto) de *T. howardi* foi de 25,22±1,24 dias na densidade de 1:1 e 20,93±0,85 dias na densidade de 25:1. A razão sexual decresceu com o aumento da densidade de fêmeas, sendo 0,96±0,01 para a densidade 1:1. A porcentagem de parasitismo de *T. howardi* em lagartas de 4º ínstar foi em média 43,47±2,76%, sem emergência de progênie em condições de semi-campo. De maneira geral, uma fêmea de *T. howardi* é capaz de parasitar e se desenvolver em lagartas de 4º ínstar de *A. gemmatalis* em laboratório e causar mortalidade em condições de semi-campo, fato que nos permite sugerir este parasitoide como um potencial agente de controle biológico desse inseto-praga.

Palavras-chave: Controle Biológico; Eulophidae; endoparasitoide; parasitoide larval.

[2] Este Capítulo segue as normas da Revista FOLIA BIOLOGICA (Kraków).

ABSTRACT

Tetrastichus howardi (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) is a larval and pupal Lepidoptera pests endoparasitoid and has been studied as a potential agent for use in biological control programs with an emphasis on important pests of economic importance crops. The objective was to evaluate the biological characteristics of *T. howardi* in *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Erebidae) fourth instar larvae, with different parasitoids densities under laboratory and semi-field conditions. The experiment was conducted in Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) and the semi-field experiment was conducted in greenhouse at Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). In the laboratory, caterpillars were individualized in Petri dishes containing diet and exposed to parasitism by different densities (1: 1, 5: 1, 10: 1, 15: 1, 20: 1 or 25: 1, parasitoid: host) for a period of 96 hours. In semi-field, 4 caterpillars were distributed per plant pot, containing two soybean plants, individualized in cages (80 x 50 cm). Subsequently, 4, 20, 40, 60, 80 or 100 females of *T. howardi* were released, representing the same proportions used in the laboratory, remaining in these conditions for 96 hours. After the parasitism, the females were removed and the caterpillars were individualized in Petri dishes containing a portion of the diet fed until death or progeny emergence, remaining in a climatic chamber (BOD) at 25±1ºC, 70±10% of UR and photophase of 14 hours. The percentage of *T. howardi* parasitism in *A. gemmatalis* caterpillars ranged from 56.00±7.48 (1:1 density) to 92.00±8.00 (density 25:1) under laboratory conditions. The percentage of emergence, total progeny and males and females longevity were similar between the treatments with 72.07±5.75%, 188.48±33.97, 13.23±0.87 and 9.48±0.41 days, respectively. *T. howardi* (egg-adult) life cycle was 25.22±1.24 days at a density of 1:1 and 20.93±0.85 days at a density of 25:1. The sex ratio decreased with the increase of females density, showing 0.96±0.01 for the density 1:1. The percentage of *T. howardi* parasitism on 4th instar caterpillars was on average 43.47±2.76%, with no progeny emergence in semi-field conditions. In general, a *T. howardi* female is able to parasite and develop on 4th instar larvae in the laboratory and cause mortality in semi-field conditions, which allows us to suggest this parasitoid as a potential agent of biological control of this pest.

Keywords: Biological control; Eulophidae; endoparasitoid; larval parasitoid.

1. INTRODUÇÃO

A cultura da soja (*Glycine max*) tem grande importância para o cenário econômico nacional sendo um dos principais produtos do agronegócio brasileiro (CONAB 2018). Por ser considerada o principal produto de exportação do Brasil, a ocorrência de artrópodes-praga comprometem a qualidade do grão de soja comercializado, exigindo métodos de controle adequados e sustentáveis (HOFFMANN-CAMPO *et. al.* 2012; MOSCARDI *et. al.* 2012). Dentre o complexo de lepidópteros-praga da soja, a lagarta *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Erebidae) é um dos principais desfolhadores da cultura no Brasil (PANIZZI *et. al.* 2004).

O crescimento de extensivas áreas do monocultivo de soja demanda uma enorme quantidade de insumos agrícolas e pulverizações com agroquímicos com o intuito de controlar os artrópodes-pragas causadores de danos econômicos. Em contrapartida, a prática do manejo integrado de pragas (MIP) é cada vez mais requerida na produção agrícola sustentável, com o uso de métodos de controle alternativos ao químico, como é o caso do controle biológico aplicado que realiza a liberação de inimigos naturais para efetivar o controle das pragas (PARON & BERTI FILHO 2000; MONTEIRO *et. al.* 2006; BUENO *et. al.* 2013; BORTOLOTTO *et. al.* 2015; VAN LENTEREN *et. al.* 2018).

Na família Eulophidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) encontram-se diferentes agentes de controle biológico, importantes no controle de diversos insetos-praga da Ordem Lepidoptera (PARON & BERTI FILHO 2000; ZACHÉ *et. al.* 2010; GADALLAH 2015; PEREIRA *et. al.* 2015). Dentre eles, destaca-se *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae), um endoparasitoide gregário com potencial no controle de diferentes lepidópteros-praga e que tem sido estudado como peça-chave no desenvolvimento de futuros programas de controle biológico de pragas (VARGAS *et. al.* 2011; COSTA *et. al.* 2014; PEREIRA *et. al.* 2015).

Para que programas de controle biológico de pragas tenham sucesso, premissas básicas devem ser investigadas, como o conhecimento do potencial biológico do parasitoide frente ao desafio de sua produção massal e posterior utilização para o controle de pragas a nível de campo (PEREIRA *et. al.* 2009; FAVERO *et. al.* 2013).

A utilização de parasitoides para o manejo de insetos considerados pragas tem se tornada alternativa promissora, devido à eficiência e a facilidade de produção e

multiplicação desses agentes benéficos (HERNÁNDEZ *et. al.* 2009; PEREIRA *et. al.* 2009; FAVERO *et. al.* 2013; PIÑEYRO *et. al.* 2016). O registro de parasitismo de lagartas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) em laboratório por *T. howardi* (VARGAS *et. al.* 2011) abre uma nova perspectiva de pesquisa, pois não se conhece os aspectos biológicos de *T. howardi* suprimindo lagartas de *A. gemmatalis.*

A pesquisa acerca dos parâmetros biológicos e reprodutivos de fêmeas de parasitoides torna-se parte essencial na adequação de técnicas de criação que visam aperfeiçoar/aprimorar a multiplicação desses inimigos naturais e tornar os custos de produção viáveis. Como parte desse processo, conhecer a densidade de fêmeas parasitoides adequada ao hospedeiro é essencial para assegurar a qualidade da progênie produzida, além de poder elucidar o potencial do parasitoide em estudo para o controle de pragas agrícolas (BARBOSA *et. al.* 2008; PEREIRA *et. al.* 2010b; PASTORI *et. al.* 2012; FAVERO *et. al.* 2013; KUMAR *et. al.* 2016a).

Os recentes estudos têm motivado os pesquisadores em relação ao potencial de parasitoides no controle biológico de importantes insetos-praga, visando substituir ou reduzir o uso de agroquímicos, tendo em vista uma tendência mundial em busca por alternativas eficazes e sustentáveis para o controle de pragas na cultura da soja (BUENO *et al.* 2013; BORTOLOTTO *et. al.* 2015; VAN LENTEREN *et. al.* 2018).

Dessa forma, objetivou-se avaliar os parâmetros biológicos de *T. howardi* em lagartas de quarto ínstar de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae), com diferentes densidades de fêmeas do parasitoide em condições de laboratório e de semi-campo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A multiplicação dos insetos e os ensaios experimentais foram conduzidos no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL), e o ensaio de semi-campo foi conduzido em casa-de-vegetação da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

2.1 Multiplicação do hospedeiro *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae)

Ovos de *A. gemmatalis* foram retirados da criação do LECOBIOL e acondicionados em potes de plástico de 1 L, contendo dieta artificial (ANEXO 1) a base de feijão cozido, germe-de-trigo, proteína de soja, caseína e levedura de cerveja para alimentação das lagartas recém eclodidas (Adaptada de Greene *et. al.* 1976). As lagartas permaneceram se alimentando dessa dieta até o último ínstar, quando foram separadas em grupos de, no máximo, 50 indivíduos/pote.

As pré-pupas foram individualizadas em potes plásticos transparentes (retangular de 500 mL e 14,2 × 9,8 × 4,7 cm) onde permaneceram até a transformação em pupas. Cerca de 50 pupas foram separadas para transformarem-se adultos, em sala separada.

As pupas foram sexadas, e os adultos recém emergidos foram transferidos para gaiolas de PVC de 15 cm de diâmetro x 22 cm altura (DN 150), na relação sexual de 1:1 e alimentados com dieta líquida a base de mel e açúcar embebidas em algodão (ANEXO 2). As gaiolas foram revestidas internamente com folhas de papel sulfite, na qual as mariposas o utilizaram como substrato para oviposição.

Os ovos foram coletados para manutenção da criação e armazenados em sala climatizada à temperatura de 25±2ºC, umidade relativa (UR) de 70±10% e fotofase de 12 horas. Os procedimentos utilizados na criação de *A. gemmatalis* estão de acordo com a metodologia proposta Zanuncio Junior *et. al.* (2012), com dieta de Greene *et. al.* (1976), adaptada por Hoffmann-Campo *et. al.* (1985).

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

Adultos de *T. howardi*, obtidos da criação estoque do laboratório, foram mantidos em tubos de ensaio (15 × 1 cm) tampados com algodão e contendo uma gotícula de mel puro (alimento para os insetos). Para a manutenção da criação, pupas de *A. gemmatalis* com 24 a 72 horas de idade foram expostas ao parasitismo, à 25 ± 1 ºC, umidade relativa de 70 ± 10% e fotofase de 14 horas até a emergência da progênie (VARGAS *et. al.* 2011).

2.3 Desenvolvimento experimental em laboratório

Foram realizados testes preliminares para a escolha do ínstar larval na qual as fêmeas parasitoides demonstrassem preferência para oviposição e se haveria mortalidade e emergência de progênie (FRANCISCO 2016), pois o ínstar larval do hospedeiro muitas vezes influencia a escolha de oviposição de adultos e o desempenho de imaturos (HU & VINSON 2000; MIRONIDIS & SAVOPOULOU-SOULTANI 2009; CHEN *et. al.* 2017).

Lagartas de 4º ínstar de *A. gemmatalis* foram expostas ao parasitismo por seis densidades de fêmeas de *T. howardi* (1, 5, 10, 15, 20 ou 25 parasitoides: 1 hospedeiro), possuindo as fêmeas parasitoides 24 horas de emergência e previamente alimentadas com mel. Cada lagarta (unidade experimental) com seu respectivo tratamento foi individualizada em placas de petri de poliestireno cristal (6 cm de diâmetro x 2 cm de altura) contendo uma porção de dieta artificial para realimentação. O material foi acondicionado em câmara climatizada tipo BOD a 25 ± 1°C, 14 h de fotofase e 70 ± 10% umidade relativa.

O período de exposição foi de 96 horas de parasitismo durante a fase larval do hospedeiro é determinado com base nos resultados de *T. howardi* parasitando lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis*, correspondendo ao tempo suficiente para o processo de parasitismo e emergência de progênie (COSTA *et. al.* 2014). Após o período de parasitismo de 96 horas, as fêmeas do parasitoide foram removidas com o auxílio de um pincel e as lagartas submetidas ao parasitismo que atingiram a fase de pupa foram transferidas para tubos de vidro (15 x 1 cm) e os demais (lagartas, pré-pupas e pupas com má-formação) permaneceram nos recipientes plásticos iniciais, com a retirada de fezes e dieta antiga, afim de que houvesse o mínimo de interferência no processo de parasitismo e desenvolvimento da progênie de *T. howardi.* O material permaneceu em câmara climatizada, nas mesmas condições, até a emergência da progênie.

Para constatar a viabilidade do hospedeiro, 25 lagartas de 4º ínstar de *A. gemmatalis* foram individualizadas em placas de petri de poliestireno cristal nas mesmas condições anteriormente citadas, contendo uma porção de dieta, porém sem a presença de parasitoides (testemunha), dessa forma determinando o número de adultos de *A. gemmatalis* emergidos.

A porcentagem de parasitismo (%P) [(número de lagartas de *A. gemmatalis* com emergência de parasitoides + lagartas sem emergência de adultos de *A. gemmatalis*/(número total de lagartas) × 100]; a porcentagem de emergência (%E) [(número de lagartas de *A. gemmatalis* com emergência de adultos dos parasitoides)/(número de lagartas parasitadas) × 100]; a duração do ciclo de vida (tempo de desenvolvimento do parasitoide imaturo contado a partir do dia do parasitismo até a emergência do adulto); a progênie total (número de parasitoides emergidos por hospedeiro parasitado); a progênie por fêmea (progênie de fêmeas em função do número de fêmeas utilizada em casa densidade avaliada); a razão sexual (número de fêmeas/número de total de adultos emergidos) e a longevidade média foram parâmetros biológicos avaliados.

Para avaliação da longevidade média de machos e de fêmeas, foram selecionados ao acaso 15 fêmeas e 10 machos de *T. howardi* de cada tratamento, sendo essa seleção realizada no dia de sua emergência, individualizados em microtubos (eppendorfs) vedados com algodão, e contendo uma gotícula de mel puro, onde permaneceram sendo observados diariamente até a sua morte. O sexo dos parasitoides foi determinado de acordo com o dimorfismo sexual observado nas antenas de *T. howardi* (LA SALLE & POLASZEK 2007; ZHENG *et. al.* 2016).

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos (densidade de fêmeas de *T. howardi*), cada tratamento composto por cinco repetições, e cada repetição representada por cinco lagartas de *A. gemmatalis* e as respectivas densidades de parasitoide, totalizando vinte e cinco lagartas (unidades experimentais) por tratamento.

2.4 Desenvolvimento experimental no ensaio de semi-campo

O número de lagartas por planta foi calculada a partir do nível de controle (NC) de lagartas de *A. gemmatalis* na soja, baseado no momento economicamente correto para iniciar uma medida de controle e assim evitar que a população de insetos cresça demasiadamente e ultrapasse o nível de dano econômico (NDE) (PEDIGO *et. al.* 1986). O NC recomendado corresponde a 20 lagartas grandes (≥ 1,5 cm) por metro linear de soja (BUENO *et. al.* 2011; BATISTELA *et. al.* 2012; CORRÊA-FERREIRA *et. al.* 2013), representando aproximadamente 2 lagartas por planta.

Nos vasos de 7 L contendo solo de barranco foram semeadas 6 sementes de soja da cultivar BRS 284 convencional sendo realizado desbaste entre os estágios V3 e V4, mantendo-se apenas 2 plantas por vaso, isentas de aplicações de defensivos químicos. Quatro lagartas de *A. gemmatalis* em 4º ínstar foram distribuídas por vaso (repetição) contendo duas plantas de soja, individualizadas em gaiolas confeccionadas com tela tipo 'voil' (80 x 50 cm).

Após a distribuição das lagartas os vasos foram cobertos individualmente, sendo posteriormente liberadas as quantidades de 4, 20, 40, 60, 80 ou 100 fêmeas de *T. howardi* com 24 horas de idade, representando as proporções de 1, 5, 10, 15, 20 e 25 parasitoides *T. howardi* por lagarta de *A. gemmatalis*. As fêmeas foram contadas e colocadas em tubos de vidro (15 x 1 cm) contendo uma gotícula de mel para alimentação dos parasitoides. Na liberação, ocorrida no final da tarde, os tubos de ensaio com os parasitoides foram posicionado entre as duas plantas no vaso.

O parasitismo foi permitido por quatro dias (96 horas) e após esse período as gaiolas foram desmontadas e as lagartas (unidades experimentais) foram individualizadas em placas de petri de poliestireno cristal (6 de diâmetro x 2 cm de altura) contendo uma porção de dieta artificial para realimentação, encaminhadas e mantidas em câmara climatizada (BOD) a 25 ± 1ºC, 70 ± 10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas no LECOBIOL até a emergência da progênie. Como testemunha, seis gaiolas foram instaladas nas mesmas condições anteriores, porém sem liberação de fêmeas de *T. howardi*. Durante o período em que as lagartas estiveram na casa-de-vegetação, as temperaturas máxima e mínima foram 31,5 ± 1,6ºC e 22,5 ± 0,8ºC, respectivamente e a umidade relativa média foi 69 ± 3,8%.

Os tratamentos foram representados pelas densidades de fêmeas de *T. howardi* sendo zero (testemunha) ou 1, 5, 10, 15, 20 e 25 parasitoides por hospedeiro, sendo que cada tratamento continha seis repetições (vasos com quatro lagartas), totalizando 24 lagartas por tratamento. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, totalizando 168 lagartas de *A. gemmatalis* utilizadas nesse ensaio de semi-campo.

A porcentagem de parasitismo (descontando-se a mortalidade natural do hospedeiro), a porcentagem de emergência, o ciclo de vida (tempo de desenvolvimento do parasitoide dentro do hospedeiro), a progênie (número de parasitoides emergidos das pupas) e a razão sexual (número total de fêmeas dividido pelo número total da progênie) foram os parâmetros avaliados.

Os critérios para considerar o processo de parasitismo de *A. gemmatalis* por fêmeas de *T. howardi* concluído foram: ocorrência de lagartas que não conseguiram transformar-se em adultos de *A. gemmatalis*, lagartas com a presença de imaturos de *T. howardi* no seu interior ou ainda pela emergência de progênie do parasitoide (ANEXOS 5, 6, 7 e 8). Sobretudo, não foi constatada mortalidade natural de *A. gemmatalis* na testemunha em condições de laboratório, assim como em semi-campo, evidenciando que as mortes resultantes dos tratamentos foram ocasionadas pela ação das fêmeas parasitoides.

Para cada bioensaio, os dados das características biológicas avaliadas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de probabilidade, e as médias quando significativas foram submetidas à análise de regressão. O melhor ajuste da equação para os parâmetros avaliados teve como base o modelo que apresentou todos os coeficientes significativos, ajustando-se melhor aos dados, com base no coeficiente de determinação (R^2), na significância dos coeficientes de regressão (βi) e da regressão pelo teste F ($p \leq 0,05$), além de se adequar ao fenômeno biológico estudado.

Foram adicionados os Intervalos de Confiança da Regressão, ao nível de 95% de probabilidade, utilizando o aplicativo SigmaPlot 10.0. Os intervalos de confiança são usados para indicar a confiabilidade de uma estimativa durante a pesquisa, e sua interpretação indica que há 95% de "chance" de esse intervalo conter as estimativas de valores plausíveis para o parâmetro da população.

3. RESULTADOS

3.1 Características biológicas de *T. howardi* em lagartas de *A. gemmatalis* em laboratório e semi-campo

Após as 96 horas de parasitismo, observou-se a sintomatologia padrão de lagartas parasitadas, com a presença/aparência de lagartas letárgicas e apáticas. Torna-se perceptível também a mudança de coloração do tegumento de *A. gemmatalis*, que inicialmente apresentou perda de coloração natural e alteração na consistência do tegumento, com aspecto entumescido (ANEXO 5 e 6).

O corpo da lagarta pós-morte, apresentou aspecto entumescido e descolorido, começou a secar e tornar-se rígido com coloração marrom (ANEXO 5-D), com

aparência mumificada e o tegumento ao terminar de escurecer, adquiriu a coloração de marrom escura a preta (ANEXO 6 e 8). Muitas lagartas de quinto ínstar que tentaram realizar a transição para a fase de pré-pupa, permaneceram em um estágio intermediário aos dois (ANEXO 8–C e D).

O processo de parasitismo foi evidenciado em todas as densidades de fêmeas avaliadas/testadas em lagartas de quarto ínstar de *A. gemmatalis* (Figura 1), ocorrendo a emergência de progênie em diferentes fases de desenvolvimento do hospedeiro em questão, tais como fase larval, fase de pré-pupa e pupa, devido ao período de parasitismo proporcionado de quatro dias, em condições de laboratório (Figura 2).

O desenvolvimento de imaturos ocorreu nas fases de pré-pupa e pupa, independente da densidade de fêmeas avaliadas. Interessante observar que o desenvolvimento de imaturos e consequente emergência de adultos de *T. howardi* na fase larval de *A. gemmatalis*, deu-se a partir da densidade de 10 fêmeas por hospedeiro (Figura 2), em relação as demais fases de desenvolvimento do hospedeiro (pré-pupas e pupas). Ressalta-se que para todos os tratamentos houve uma porcentagem de mortalidade ocasionada pelo processo de parasitismo de *T. howardi*, principalmente para a densidade de 15 fêmeas: 1 hospedeiro, que mesmo apresentando a menor taxa de emergência de progênie de *T. howardi* em fase larval (16,67%), as fêmeas ocasionaram a morte de 56,00% das lagartas desse tratamento, sem que houvesse a possibilidade do desenvolvimento da progênie no interior do hospedeiro. Outro fato interessante é que, à medida que a densidade de fêmeas aumenta e há uma maior efetividade do parasitismo sobre as lagartas, observa-se uma diminuição de emergências de mariposas de *A. gemmatalis*, devido ao processo de parasitismo intensificado pelo *T. howardi*, que variou de 44,00% (densidade 1:1) a 8,00% (densidade 25:1).

A porcentagem de parasitismo de fêmeas de *T. howardi* sobre lagartas de *A. gemmatalis* foi influenciada pela densidade de fêmeas e diferiu significativamente em todos os tratamentos ($P = 0,0176$ e $F = 15,1774$), apresentando relação positiva direta ao aumento da densidade de fêmeas. Houve variação de 56,00 ± 7,48 % de parasitismo na densidade 1:1 a 92,00 ± 8,00 % na densidade 25:1 (Figura 1 e 3).

A taxa de emergência de progênie, progênie total e longevidade de machos e de fêmeas foram semelhantes, independente dos tratamentos avaliados, apresentando média de 72,07 ± 5,75%, 188,48 ± 33,97 indivíduos, 13,23 ± 0,87 e 9,48 ± 0,41 dias

respectivamente, não havendo diferença estatística (p > 0,05) para esses parâmetros biológicos (Tabela 1).

Apesar de a densidade de fêmeas de *T. howardi* por lagartas de *A. gemmatalis* não ter influenciado a descendência destes parasitoides, houve variação de produção de progênie total com mínimo de 73,11 ± 8,89 e máximo de 271,88 ± 38,44 descendentes de *T. howardi* produzidos nas densidades de 1 e 10 parasitoides por hospedeiro, respectivamente.

A proporção de fêmeas de *T. howardi* por hospedeiro interfere no ciclo de vida dos parasitoides emerggidos, pois a duração do ciclo biológico (ovo-adulto) decresceu com o aumento da densidade de fêmeas: hospedeiro, apresentando variação de 25,22 ± 1,24 dias para densidade de 1 fêmea: hospedeiro a 20,93 ± 0,85 dias na densidade de 25 fêmeas: hospedeiro (P = 0,0251 e F = 12,1791) (Figura 4).

A progênie de fêmeas produzidas por fêmea (P = 0,0046 e F = 52,9604) (Figura 5) e a razão sexual (P = 0,0489 e F = 7,8282) (Figura 6) demonstraram relação inversa com o aumento da densidade de fêmeas do parasitoide, apresentando maior valor para a densidade 1:1, com 69,67 ± 8,67 fêmeas produzidas por fêmea parasitoide e 0,96 ± 0,01 (número de fêmeas por número total de adultos), respectivamente.

O potencial biológico de 1 fêmea de *T. howardi* é destacado com 56,00 ± 7,48% de parasitismo, 91,67 ± 8,33% de emergência. A duração do desenvolvimento (ovo-adulto) foi de 25,22 ± 1,24 dias. A capacidade de produção de descendentes total foi de 73,11 ± 8,89 e produção de fêmeas por fêmea de 69,67 ± 8,67, com razão sexual de 0,96 ± 0,01.

Em semi-campo, observou-se uma taxa parasitismo de 50,00 ± 10,21, 45,00 ± 9,35, 50,00 ± 14,43, 45,00 ± 9,35, 33,33 ± 8,33, 37,50 ± 7,22 para as respectivas densidades 1:1, 5:1, 10:1, 15:1, 20:1 e 25:1, parasitoide: hospedeiro. Devido a não diferença estatística entre os valores desse parâmetro, foi considerada a média geral de 43,47 ± 2,76% de parasitismo, sem emergência de progênie nas condições de semi-campo.

4. DISCUSSÃO

O parasitismo por diferentes densidades de fêmeas em lagartas de quarto ínstar de *A. gemmatalis*, confirmam o potencial biológico de *T. howardi* como agente de controle biológico dessa espécie-praga. Apesar da preferência de *T. howardi* por pupas

de lepidópteros-pragas ser relatada na literatura, todas as densidades testadas se desenvolveram em lagartas de quarto ínstar de *A. gemmatalis*, com destaque para o potencial biológico de 1 fêmea que causou mortalidade e conseguiu superar as defesas do hospedeiro para o seu desenvolvimento.

A densidade de fêmeas de *T. howardi* por lagarta de *A. gemmatalis* afetou a porcentagem de parasitismo, duração do ciclo de vida, a progênie de fêmeas por fêmeas e a razão sexual da prole deste parasitoide. Tendo em vista que o desenvolvimento do parasitoide está intimamente associado ao tamanho e a qualidade do hospedeiro (PASTORI *et. al.* 2012), então a densidade de fêmeas parasitoides e o período de exposição do hospedeiro, influenciam diretamente no tamanho e qualidade da prole/progênie (ANDRADE *et. al.* 2010; BARBOSA *et. al.* 2008; 2010).

Devido ao processo de parasitismo ser em um hospedeiro não habitualmente utilizado pelo endoparasitoide *T. howardi*, espera-se que uma maior quantidade de fêmeas sejam requeridas para que o parasitoide supere satisfatoriamente as barreiras imunológicas do hospedeiro e consiga completar seu desenvolvimento (PEREIRA *et. al.* 2010a,b; ALTOÉ *et. al.* 2012; HOOD *et. al.* 2012). Dessa forma, estratégias como uma maior quantidade de vírus, polidnavírus e substâncias "venenosas" são liberadas na hemolinfa do hospedeiro juntamente com os ovos durante a oviposição em grandes larvas, para interferir no reconhecimento do sistema imunológico das larvas (SCHMID-HEMPEL 2005; PENNACCHIO & STRAND 2006; KHAFAGI & HEGAZI 2008; HARVEY *et. al.* 2013; MOREAU & ASGARI 2015), uma vez que o sistema imune do hospedeiro é o principal causador da mortalidade de imaturos do parasitoide, e o grau de encapsulamento tem fortes implicações para o sucesso reprodutivo dos inimigos naturais (ANDRADE *et. al.* 2010; HARVEY *et. al.* 2013; MOREAU & ASGARI 2015).

Os parasitoides da família Eulophidae *Palmistichus elaeisis* Delvare e LaSalle, 1993 e *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) injetam "veneno" durante a oviposição em pupas de *A. gemmatalis*, acarretando mudanças no número total de hemócitos circulantes, indicando que esta é uma via comum para a imunossupressão do hospedeiro (ANDRADE *et. al.* 2010). A redução no número de hemócitos circulantes proporciona um ambiente favorável para o desenvolvimento da fase imatura do parasitoide e impede que o hospedeiro produza

espécies reativas intermediárias de oxigênio, nitrogênio e melanina (UCKAN *et. al.* 2004; CARTON *et. al.* 2008; ANDRADE *et. al.* 2010).

Ao explicar a diminuição nos hemócitos circulantes e as taxas de encapsulação em pupas de *A. gemmatalis* parasitadas, os autores sugerem que esses parasitoides usem diferentes estratégias para suprimir a imunidade do hospedeiro, resultantes de substâncias tóxicas presentes no líquido ovariano, ricas em proteínas que induzem alterações e morte dos hemócitos ou modificação de suas propriedades de adesão, liberadas pelos parasitoides durante a oviposição (AMAYA *et. al.* 2005; WU *et. al.* 2008; NALINI *et. al.* 2009; ANDRADE *et. al.* 2010).

O aumento da densidade de *T. howardi* por lagarta de *A. gemmatalis* tem papel importante na diminuição da ação desses hemócitos e permite que as larvas imaturas de *T. howardi* completem o seu desenvolvimento. De maneira semelhante, houve uma redução na capacidade defensiva da imunidade de pupas *A. gemmatalis*, com diminuição na taxa de encapsulamento, suprimindo a defesa celular do hospedeiro com o aumento das densidades dos parasitoides *T. diatraeae* e *P. elaeisis* (ANDRADE *et. al.* 2010).

Maiores densidades permitem que mais ovos dos parasitoides se desenvolvam, diminuindo a capacidade do hospedeiro de encapsulá-los, além de reduzir as defesas humoral e celular, aumentando a concentração de fluidos injetados durante a oviposição resultando em mudanças fisiológicas nos hemócitos do hospedeiro parasitado (NALINI *et. al.* 2009; ANDRADE *et. al.* 2010). A oviposição por um maior número de fêmeas no mesmo hospedeiro resulta em maior sucesso reprodutivo dos endoparasitoides com hábito gregário em comparação aos solitários (VAN ALPHEN & VISSER 1990; MOREAU & ASGARI 2015), já que menores quantidades de larvas imaturas no hospedeiro usualmente morrem devido a encapsulação, asfixia ou devido a ativação de substâncias antagonistas ao seu desenvolvimento (NAPPI & CHRISTENSEN 2005).

A falta de relação co-evolutiva entre hospedeiros alternativos e fêmeas parasitoides pode dificultar a supressão do sistema imunológico do hospedeiro, podendo ocasionar falhas na produção massal ou até possíveis problemas no uso desses inimigos naturais no controle de pragas de insetos (ANDRADE *et. al.* 2010). Entretanto o potencial biológico de uma fêmea *T. howardi* em parasitar diferentes fases de desenvolvimento de *A. gemmatalis* (lagarta, pré-pupa ou pupa) demonstra a habilidade deste parasitoide em se desenvolver nesse hospedeiro, pois essas fases caracterizam-se

em ambientes nutricionais completamente diferentes, que poderiam influenciar negativamente no desenvolvimento da progênie (CÔNSOLI & VINSON 2009).

Os parasitoides imaturos que não conseguiram completar o desenvolvimento nas lagartas de quarto ínstar de *A. gemmatalis*, não havendo emergência de *T. howardi* nesse estádio, mas causando a morte do hospedeiro, pode ser explicado devido ao excesso de toxina injetada no momento da oviposição, considerando principalmente a proporção de quinze fêmeas parasitoides por lagarta de quarto ínstar de *A. gemmatalis*.

O desenvolvimento dos endoparasitoides depende, intrinsicamente das características do hospedeiro serem capazes de satisfazer as necessidades nutricionais das larvas imaturas, em contrapartida a capacidade das fêmeas do parasitoide em prover substâncias para lutar contra a resposta imune do hospedeiro (STRAND & PECH 1995; STRAND 2008; PASTORI *et. al.* 2012). Sendo assim, doses elevadas de toxinas injetadas por muitas fêmeas podem levar o hospedeiro a morte antes que ocorra o desenvolvimento completo dos imaturos (STRAND 2008; ANDRADE *et. al.* 2010).

É importante mencionar que o estoque de ovos também está envolvido no sucesso reprodutivo de fêmeas parasitoides. Dessa forma, os parasitoides sinovigênicos não possuem seu estoque de ovos limitado, isto é, podem aumentar a quantidade de ovos em número no decorrer da sua vida; em contrapartida os parasitoides proovigênicos apresentam quantidade fixa de ovos na fase adulta (HEIMPEL & ROSENHEIM 1998). Dessa forma, o período de exposição de 96 horas foi essencial para o processo de parasitismo neste experimento, pois parasitoides sinovigênicos como *T. howardi* necessitam de tempo para a produção de novos ovos durante a vida adulta e, portanto, maior tempo de exposição ao hospedeiro para a expressão de todo o seu potencial de parasitismo e emergência (PAPAJ 2000; SILVA-TORRES *et. al.* 2010; COSTA *et. al.* 2014).

O número de lagartas de terceiro ínstar de *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) parasitadas por *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov, 1912) (Hymenoptera: Eulophidae), aumentou significativamente em função da densidade de lagartas ofertadas, com maior taxa de parasitismo após 72 horas (24 horas, 52,4% e 72 horas, 80,7%, corroborando com o descrito anteriormente. A variabilidade no sucesso reprodutivo pode estar relacionada a proporções inadequadas de fêmeas de parasitoides por hospedeiro, resultando em injeções de toxinas tão menores quanto as necessárias

para reduzir a resposta imune do hospedeiro (ANDRADE *et. al.* 2010; CUSUMANO *et. al.* 2010; HARVEY *et. al.* 2013).

Muitos parasitoides da família Eulophidae apresentam a capacidade e eficiência de parasitar hospedeiros de diferentes tamanhos e fases de desenvolvimento, famílias e ordens (BAITHA *et. al.* 2004; LA SALLE & POLASZEK 2007; PRASAD *et. al.* 2007; SILVA-TORRES *et. al.* 2010; PASTORI *et. al.* 2012). As espécies registradas no gênero *Tetrastichus* spp. são consideradas parasitoides de fases larvais-pupais, e assim como nessa pesquisa *T. howardi* foi analisado/estudado parasitando e se desenvolvendo em larvas de *P. xylostella*, sendo dessa forma considerado parasitoide de larva-pupa (KARINDAH *et. al.* 2005; SILVA-TORRES *et. al.* 2010), e em larvas de quinto ínstar e pupas recém formadas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) (VARGAS *et. al.* 2011; PEREIRA *et. al.* 2015).

Importante levar em consideração que as larvas em estádio mais adiantado de desenvolvimento, próximas ao estádio de pupa possuem um comportamento mais agressivo de defesa, demonstrando que hospedeiros maiores e em ínstares finais podem se defender melhor do que os hospedeiros em ínstares mais novos, apresentando um desafio muito maior para o desenvolvimento de larvas dos parasitoides (BECKAGE &TEMPLETON 1985; HARVEY & MALCICKA 2016).

Esse fato, possivelmente está relacionado com as alterações nos hormônios da metamorfose, haja vista que a proximidade com a fase de pupa reduz a liberação do hormônio juvenil e estimula a produção e liberação do hormônio de ecdise na hemolinfa dos lepidópteros (COSTA & IDE 2006), influenciando o desenvolvimento/desempenho dos imaturos dentro do hospedeiro, por serem processos caros que podem reduzir a sobrevivência dos parasitoides imaturos nesses hospedeiros (HU & VINSON 2000; MIRONIDIS & SAVOPOULOU-SOULTANI 2009; MAWELA *et. al.* 2013; HARVEY & MALCICKA 2016).

Por esse motivo, o quarto ínstar da fase larval se apresentou no momento adequado para ser parasitado, em um ínstar intermediário que permitiu o desenvolvimento de *T. howardi* e que não reagiu com movimentos defensivos ao ataque do parasitoide como o quinto ínstar, favorecendo o parasitismo (CÔNSOLI & VINSON 2009; HARVEY *et. al.* 2013), e provavelmente por conter menores defesas imunológicas do que os ínstares posteriores, dificultando muito menos o desenvolvimento e sobrevivência da progênie de *T. howardi* (STRAND & PECH 1995).

O aumento da taxa de parasitismo e a porcentagem de emergência média da progênie de *T. howardi* proveniente do aumento da densidade de fêmeas evidencia que estes agentes de controle biológico consideram adequados para o seu desenvolvimento as lagartas de quarto ínstar de *A. gemmatalis*. A emergência de progênie proveniente de pré-pupas e pupas de *A. gemmatalis* pode ser explicada pela influência do parasitismo exercido pela maior densidade de 25 fêmeas para 1 hospedeiro, induzindo a mudança de fase ao hospedeiro pelo estresse do processo de parasitismo. Devido a esse processo de desgaste do hospedeiro em se defender e ao possível cessar de sua alimentação, o metabolismo pode ter sido reduzido, e com isso as secreções das células do cérebro passam a estimular a glândula protorácica em níveis suficientes para promover a mudança de fase (COSTA & IDE 2006; COSTA *et. al.* 2014).

O aumento na densidade de fêmeas de *T. howardi* por lagartas de *A. gemmatalis* não influenciou a progênie deste parasitoide. A maior quantidade em média de indivíduos de *T. howardi* produzidos por lagarta de *A. gemmatalis* nas densidades de 10 e 25 parasitoides por hospedeiro, demonstra a capacidade de produção desse inimigo natural, em produzir mais de 200 indivíduos por lagarta parasitada. Apesar de não haver diferença entre os tratamentos, as densidades de fêmeas por lagarta de *A. gemmatalis* que proporcionaram menor produção de progênie desse parasitoide, sugerem que proporções inadequadas de fêmeas por hospedeiro resultam em redução da oviposição e morte de parasitoides imaturos que não conseguiram se desenvolver adequadamente (PEREIRA *et. al.* 2010b).

Proporções inadequadas de fêmeas parasitoides por hospedeiro podem reduzir ou aumentar o número de ovos ovipositados e a quantidade de toxinas injetadas pelas fêmeas parasitoides. As toxinas são necessárias para reduzir a resposta imunológica do hospedeiro, um mecanismo de defesa utilizado para encapsular ovos ou estágios imaturos do parasitoide (PENNACCHIO & STRAND 2006; MOREAU & ASGARI 2015). Dessa forma, os ovos podem ser encapsulados e mortos pelos hemócitos do hospedeiro quando a densidade de fêmeas do parasitoide for baixa para suprimir a resposta do sistema imune (STRAND 2008; ANDRADE *et. al.* 2010).

Entretanto, na densidade de uma fêmea de *T. howardi* por hospedeiro houve produção de progênie, evidenciando que o mesmo superou as barreiras do sistema imunológico satisfatoriamente, provavelmente devido as substâncias injetadas pela fêmea parasitoide durante a oviposição ou secretada por sua progênie, influenciando a

qualidade do hospedeiro de forma a beneficiar o sucesso do desenvolvimento da progênie (HARVEY *et. al.* 2013).

Observou-se que a progênie resultante de altas densidades de fêmeas sob um único hospedeiro resultou em indivíduos visualmente com menor tamanho corporal, provavelmente devido a competição dos imaturos por recurso e espaço limitado no interior de *A. gemmatalis*. Essa associação entre pequeno tamanho corporal da progênie e o alto índice de ovigenia é entendida como uma relação que pode ocorrer aleatoriamente, em oportunidades reprodutivas combinadas com recursos totais mínimos, para alocação de sua progênie e devido à sobrevivência, resultando em indivíduos de menor tamanho corporal comparado com progênies resultantes de menores densidades de fêmeas. Entre as diversas espécies de parasitoides, o tamanho do hospedeiro, o tamanho da progênie e o tamanho do corpo tendem a covariar (ASGARI & RIVERS 2011; MAYHEW 2016; HARVEY & MALCICKA 2016).

O sistema reprodutivo de *T. howardi* é típico dos himenópteros eulofídeos, consistindo de dois ovários, cada um geralmente compreendendo 8 a 9 ovaríolos. A oogênese e a vitelogênese iniciam-se 12 horas após a emergência e os ovos maduros são observados em 24 horas após a emergência. O número de ovos nos ovários de *T. howardi* apresentou correlação positiva significativa com o comprimento corporal e a largura da cabeça da fêmea adulta (ZHONG *et. al.* 2016), fato importante ao escolher uma densidade ótima de fêmeas parasitoides que resulte em uma progênie com qualidade e suficientemente eficiente para parasitar novos hospedeiros.

Resultados semelhantes foram obtidos para a progênie de *P. elaeisis* com indivíduos maiores na densidade de uma fêmea parasitoide para um hospedeiro. Os autores justificaram esse fato pela menor competição das larvas por nutrientes no interior do hospedeiro e pelo menor número de descendentes gerados por pupa nessa densidade. Indicadores de qualidade como preferência de cópula, fecundidade, longevidade, porcentagem de emergência da progênie e razão sexual tem correlação positiva ao tamanho do corpo das fêmeas parasitoides, indicando a eficiência desses agentes de controle biológico (PASTORI *et. al.* 2012).

Embora a aptidão da descendência possa diminuir com o aumento do tamanho da progênie em consequência da competição dos imaturos, existe um valor máximo de aptidão a ser atingido proveniente de um hospedeiro (STRAND, PECH, 1995; HARVEY *et. al.* 2013). O aumento na competição pelos recursos alimentares

fornecidos pelo hospedeiro resultante do superparasitismo em parasitoides gregários pode reduzir a qualidade dos parasitoides, demonstrando a importância da escolha da relação adequada de fêmeas parasitoides por hospedeiro (MOREIRA *et. al.* 2009; PASTORI *et. al.* 2012).

Entretanto, apesar do superparasitismo inicialmente ser tratado como uma desvantagem adaptativa devido ao gasto de tempo e deposição de ovos em um hospedeiro já parasitado (SOARES *et. al.* 2009), por outro lado novos ataques recebidos pelo mesmo hospedeiro podem causar danos irreparáveis e levá-lo à morte (GODFRAY 1994). Fêmeas parasitoides que ovipositam em hospedeiros recentemente parasitados, reconhecem que os mesmo possuem o sistema imunológico enfraquecido que permite a sobrevivência de sua prole (KHAFAGI & HEGAZI 2008).

Não obstante, alguns registros têm abordado o superparasitismo como estratégia adaptativa dos parasitoides gregários, podendo ser benéfico em situações como quando os hospedeiros são escassos, e/ou quando a prole de uma segunda fêmea parasitoide não será fortemente afetada através da competição por recursos com os descendentes da primeira fêmea parasitoide (VAN ALPHEN & VISSER 1990; GODFRAY 1994; HARVEY *et. al.* 2013).

A capacidade reprodutiva de uma fêmea de *T. howardi* foi de aproximadamente 70 fêmeas parasitoides por lagarta de quarto ínstar de *A. gemmatalis*, assim como a progênie de uma fêmea de *T. howardi* em lagartas de terceiro ínstar de *D. saccharalis* com uma exposição de 96 horas (COSTA *et. al.* 2014). A razão pela qual houve decrescimento da progênie de fêmeas produzidas por fêmeas está relacionada com o quanto os parasitoides regulam sua postura e respeitam a quantidade de alimento disponível para o desenvolvimento de sua progênie, através da determinação do tamanho do seu hospedeiro, a fim de evitar a competição excessiva dos estágios imaturos pelo recurso nutricional restrito. Dessa forma, as fêmeas ovipositam um menor número de ovos quando há uma maior forrageamento de outras fêmeas parasitoides em um mesmo ambiente (ZAVIEZO & MILLS 2000).

T. howardi é um parasitoide cosmopolita e gregário e o seu desenvolvimento é restrito aos recursos nutricionais encontrados em um único hospedeiro que, dependendo da proporção de fêmeas parasitoides pode resultar na competição dos estágios imaturos por estes recursos (SAGARRA *et. al.* 2001; KHAFAGI & HEGAZI 2008; VARGAS *et. al.* 2011; HARVEY *et. al.* 2013; COSTA *et. al.* 2014). O hospedeiro representa o

recipiente para o desenvolvimento da progênie e os requerimentos nutricionais dos parasitoides são geralmente altamente específicos para cada inimigo natural, variando de acordo com as espécies hospedeiras, tamanho corporal ou fase de desenvolvimento. Dessa forma a espécie hospedeira afeta o desenvolvimento dos parasitoides e seu ciclo biológico (CÔNSOLI & VINSON 2009; HARVEY *et. al.* 2013; HARVEY & MALCICKA 2016).

A redução do ciclo biológico (ovo-adulto) com o aumento da densidade de fêmeas pode ser explicado pela maior pressão de seleção existente devido a competição entre os imaturos de *T. howardi*, como relatado para o eulofídeo *P. elaeisis* em diferentes densidades de fêmeas parasitando pupas de *Thyrinteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae) (BARBOSA *et. al.* 2016) e para o período de ovo a adulto de *T. howardi* em lagarta de terceiro ínstar de *D. saccharalis* (COSTA *et. al.* 2014), além de outros trabalhos que apresentam o mesmo padrão (FAVERO *et. al.* 2013; RODRIGUES *et. al.* 2013; PASTORI *et. al.* 2012).

Progênies maiores frequentemente consomem mais rapidamente a quantidade de recursos ‘per capita’ disponível no hospedeiro, que são compartilhados entre as inúmeras larvas de parasitoides em desenvolvimento, contribuindo para a redução do ciclo de desenvolvimento, que consequentemente resultará em indivíduos de menor tamanho corporal (MACKAUER & SEQUEIRA 1993; HARVEY *et. al.* 2013; HARVEY & MALCICKA 2016). A duração do ciclo de vida de vida dos parasitoides pode desempenhar papel importante na determinação de indivíduos mais competitivos sob o hospedeiro, e dessa forma devido ao combate físico dos imaturos ou supressão fisiológica, podem reduzir o período de desenvolvimento de ovo a adulto do parasitoide (BRODEUR & BOIVIN 2004; PEREIRA *et. al.* 2010b).

A razão sexual (predominância de fêmeas em relação a população/progênie total) da progênie de *T. howardi* em lagartas de *A. gemmatalis* é um parâmetro muito relevante para seu uso como agentes de controle biológico, pois as fêmeas parasitoides são os agentes responsáveis pelo parasitismo e sucesso no controle de pragas, proporcionando o aumento da criação massal e seu desempenho no campo (RODRIGUES *et. al.* 2013; COSTA *et. al.* 2014; KUMAR *et. al.* 2016a).

Os valores de razão sexual variam devido as diferenças no valor nutricional, barreiras fisiológicas, capacidade de defesa e disponibilidade dos diferentes hospedeiros (ZACHÉ *et. al.* 2012; PASTORI *et. al.* 2012). Valores de razão sexual acima de 0,80

demonstra o potencial do parasitoide *T. howardi*, como relatado para este parasitoide em lagartas de terceiro instar de *D. saccharalis* (COSTA *et. al.* 2014), e também para o desenvolvimento em pupas de *D. saccharalis*, de *Chilo auricilius* Dudgeon, 1905 (Lepidoptera: Crambidae), *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae) (PEREIRA *et. al.* 2015; PIÑEYRO *et. al.* 2016; KUMAR *et. al.* 2016; HARVEY & MALCICKA 2016).

A densidade de fêmeas parasitoides por hospedeiro pode afetar a razão sexual da prole (CHOI *et. al.* 2001) assim como observado nessa pesquisa, provavelmente devido ao aumento de imaturos no interior do mesmo hospedeiro e consequentemente, devido ao alto grau de competição exercido por indivíduos da mesma espécie, a medida que há uma maior pressão de seleção pelas fêmeas parasitoides ocorre um aumento proporcional da progênie total (machos e fêmeas), e uma consequente redução na produção de fêmeas (progênie de fêmeas produzidas por fêmeas) (SOARES *et. al.* 2009). A progênie resultante geralmente apresenta um menor tamanho corporal (FIDGEN *et. al.* 2000; RIDDICK, 2008), todavia com progênies superiores a 100 parasitoides (como observado a partir da densidade de 5 fêmeas parasitoides por hospedeiro) com desempenho reprodutivo de alta qualidade (PEREIRA *et. al.* 2010a,b; CHICHERA *et. al.* 2012).

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.* 2012). Altos valores de razão sexual de *T. howardi* demonstram a importância deste parâmetro para os experimentos de laboratório e o estudo de multiplicação massal de parasitoides, anteriormente à seleção de indivíduos para liberação no campo, pois as fêmeas parasitoides são responsáveis pela geração subsequente (AMALIN *et. al.* 2005; PASTORI *et. al.* 2012; COSTA *et. al.* 2014). Todavia, menores valores de razão sexual de fêmeas parasitoides em função da espécie hospedeira, pode reduzir a eficácia do parasitismo, uma vez que a porcentagem de parasitismo é maximizado quando há uma grande progênie de fêmeas geradas (PEREIRA *et. al.* 2009; 2010a,b; 2011).

Apesar de não haver diferença entre as médias de longevidade (fêmeas e machos) em relação a densidade de fêmeas parasitoides, o período de sobrevivência das

fêmeas correspondeu a 10 dias em média aproximadamente, tempo esse que os agentes de controle biológico utilizam para localizar o hospedeiro no habitat, avaliando e elegendo aqueles que refletirem/apresentarem melhor qualidade para o desenvolvimento da prole, interferindo diretamente no desempenho da progênie (ROYER *et. al.* 1999). Os machos adultos emergidos de *A. gemmatalis* vivem em média 13 dias, tempo esse necessário para seu maior sucesso em achar uma parceira para realizar o acasalamento (SAGARRA *et. al.* 2001).

A longevidade dos adultos (machos e fêmeas) de *P. elaeisis* e *T. diatraeae* superior a 10 dias foi suficiente para que, quando liberados, encontrassem seus hospedeiros e realizassem o parasitismo (CHICHERA *et. al.* 2012). Já a longevidade de fêmeas de *T. howardi* foi de 21 dias (25ºC) em pupas de *D. saccharalis*, variando de 50 dias (16°C) a 2 dias (31 °C), importante principalmente para essa espécie de parasitoide que coloca ovos ao longo do seu período reprodutivo, diretamente atrelada a fecundidade (FAVERO *et. al.* 2015). Uma vantagem adicional é a de que quanto maior o tempo de vida da fase adulta dos parasitoides, principalmente para as fêmeas, maior será o tempo de transporte para os locais de liberação, garantindo a sobrevivência dos inimigos naturais em campo.

A longevidade de machos e fêmeas pode ser influenciada pela densidade de hospedeiros (GONZÁLEZ 2003) como corroborado nessa pesquisa, pela espécie hospedeira escolhida pelo parasitoide em particular (KFIR *et. al.* 1993), pela atividade de acasalamento (KARINDAH *et. al.* 2005), pela temperatura ambiente (FAVERO *et. al.* 2015) dentre outros fatores relatados na literatura.

Uma interessante teoria relaciona a longevidade de parasitoides com a produção de progênie total, ou seja, toda a capacidade reprodutiva das fêmeas parasitoides. Para as fêmeas, aumentar o número de ovos produzidos pode compensar com um investimento de energia e tempo e alocação de recursos, diminuindo assim a longevidade. Sobretudo em situações em que haja uma ausência de hospedeiros adequados à escolha do parasitoide, impõem-se/estimula-se a seleção às fêmeas para aumentar a longevidade e diminuir a fecundidade, controlando a ovulação ou reabsorvendo ovos (GODFRAY 1994; PEXTON & MAYHEW 2002; SILVA-TORRES *et. al.* 2010; JERVIS & FERNS 2011; MAYHEW, 2016; SEGOLI *et. al.* 2018).

O fato de fêmeas *T. howardi* parasitarem o hospedeiro em condições de semi-campo, é uma vantagem importante, porque nessas condições o parasitismo por si só é suficiente para impedir o ciclo contínuo da praga (BARBOSA *et. al.* 2015). Devido aos resultados obtidos no ensaio de semi-campo, não houve emergência de *T. howardi* de lagartas de *A. gemmatalis*, podendo indicar que mesmo com a oviposição e inserção de venenos e toxinas, houve fatores que dificultaram a manipulação do hospedeiro, assim como para *P. elaeisis* no interior de pupas de *D. saccharalis* supostamente parasitadas (CHICHERA *et. al.* 2012).

O aumento da taxa de parasitismo de *O. sokolowskii* em função da densidade de larvas de *P. xylostella* disponíveis não foi observado em semi-campo, com média de 30 a 40% de parasitismo em campo (SILVA-TORRES *et. al.* 2010), de forma semelhante aos resultados desse experimento. Em condições de campo, em que a variabilidade ambiental foi maior, incluindo irrigação durante o experimento, mesmo quando os parasitoides tiveram um período de 96 horas para localizar e parasitar o hospedeiro, a taxa de parasitismo foi inferior à encontrada em laboratório. Dessa forma, uma hipótese complementar é a de que, além do tempo de exposição, outros fatores tais como as condições ambientais (temperatura, precipitação, vento, intensidade de luz) interagem e interferem na capacidade de parasitismo de *T. howardi*, assim como ocorreu para *O. sokolowskii* parasitando lagartas de terceiro ínstar de *P. xylostella* (SILVA-TORRES *et. al.* 2010).

As condições e a complexidade do sistema podem ser altamente variáveis, em comparação ao laboratório. Com o passar do tempo, o hospedeiro parasitado permanece susceptível a ser contaminado por microrganismos oportunistas presente no semi-campo, aumentando assim os riscos de que o hospedeiro - e a descendência de parasitoides que ele supostamente carregava - sucumbam a mortalidade causada pelo meio não controlado. Esta é uma hipótese pelo qual observamos apenas a mortalidade de lagartas nas plantas de soja com os sinais de parasitismo sem que houvesse a emergência de progênie, enquanto a mortalidade natural foi nula na testemunha.

Em campo, o crescimento populacional desses parasitoides poderá ser mais rápido que o de *A. gemmatalis*, tendo em vista que o número de gerações de *T. howardi* será quase o dobro desse desfolhador, pois a mesma completa o seu ciclo com 40 dias aproximadamente. Essa informação torna-se importante para o controle biológico dessa praga, que apresenta elevado potencial biótico, na qual as larvas do 4º ao 6º ínstar são as

principais causadoras de danos, com comprimento superior ou igual a 1,5 cm que devem ser observadas durante a amostragem de pragas para tomadas de decisões de manejo (CHICHERA *et. al.* 2012; BATISTELA *et. al.* 2012; HOFFMANN-CAMPO *et. al.* 2012; MOSCARDI *et. al.* 2012).

A maior eficiência de *T. howardi* em parasitar e se desenvolver em lagartas de *A. gemmatalis* e gerar aproximadamente 200 descendentes, com uma razão sexual acima de 0,80, é importante para o estabelecimento de suas populações em campo. O aumento da densidade de fêmeas de *T. howardi* por lagartas de *A. gemmatalis* gerou maior número de descendentes e a competição entre imaturos pode ter reduzido no ciclo (ovo-adulto) desse parasitoide. No entanto, isto pode ser benéfico, pois o menor ciclo de vida leva a um maior número de gerações anuais e conseqüentemente maior população presente no agroecossistema. (CHICHERA *et. al.* 2012).

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). Devido *T. howardi* ter parasitado lagartas de quarto ínstar de *A. gemmatalis* e ter emergido em diferentes fases de desenvolvimento desse hospedeiro (fase larval, pré-pupa e/ou pupa) demonstra a plasticidade das fêmeas parasitoides e sua capacidade de adaptação ao hospedeiro, superando as defesas imunológicas do mesmo. Esse fato torna-se expressivo para o aumento da eficiência do controle biológico desta praga, possivelmente aliado a um efeito combinado com espécies parasitoides de ovos de lepidópteros-praga, como *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae), gênero mundialmente utilizado por produtores para controlar *A. gemmatalis* (AVANCI *et. al.* 2005; VALVERDE *et. al.* 2009; DUDCZAK *et. al.* 2017).

Essa pesquisa permite estimar a quantidade de parasitoides que se desenvolvem a uma dada densidade de fêmeas de *T. howardi* sob a fase larval de *A. gemmatalis*. A tendência futura é corroborar para a implementação de bases em um programa de controle biológico desse lepidóptero-desfolhador da soja. A evidência de que apenas um indivíduo de *T. howardi* tenha capacidade de parasitar uma lagarta de quarto ínstar de *A. gemmatalis* tem relevante importância para o manejo integrado de pragas da soja.

Este é o primeiro relato de lagartas de *A. gemmatalis* parasitadas por fêmeas de *T. howardi*, importante desfolhador de soja. Este parasitoide oferece novas perspectivas para os programas de controle biológico desta espécie em agroecossistemas de soja no

Brasil. Dessa forma, novos estudos devem ser conduzidos para verificar a capacidade e eficiência de *T. howardi* como parasitoide em condições de campo, tendo em vista que as pupas de *A. gemmatalis* localizam-se geralmente nos primeiros centímetros do solo, impedindo a localização das mesmas pelos inimigos naturais. Adicionalmente, a dinâmica populacional do parasitoide em conjunto com comportamento do lepidóptero-praga nas lavouras também deve ser levada em consideração futuramente.

5. CONCLUSÕES

Fêmeas de *T. howardi* parasitam e se desenvolvem em lagartas de quarto ínstar de *A. gemmatalis* nas densidades de 1, 5, 10, 15, 20 e 25, fêmeas por hospedeiro em condições de laboratório e causam mortalidade por meio do parasitismo em semi-campo.

REFERÊNCIAS

ALTOÉ T.S., PRATISSOLI D., CARVALHO J.R., SANTOS JUNIOR H.J.G., PAES J.P.P., BUENO R.C.O.F., BUENO A.F. 2012. *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitism of *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs under different temperatures. Ann. Entomol. Soc. Am. **105**: 82–89.

AMALIN D.M., PENA J.E., DUNCAN R.E. 2005. Effects of host age, female parasitoid age, and host plant on parasitism of *Ceratogramma etiennei* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Fla. Entomol. **88**: 77-82.

AMAYA K.E., ASGARI S., JUNG R., HONGSKULA M., BECKAGE N.E. 2005. Parasitization of *Manduca sexta* larvae by the parasitoid wasp *Cotesia congregate* induces an impaired host immune response. J. Insect. Physiol. **51**: 505–512.

ANDRADE G.S., SERRAO J.E., ZANUNCIO J.C., ZANUNCIO T.V., LEITE G.L.D., POLANCZYK R.A. 2010. Immunity of an alternative host can be overcome by higher densities of its parasitoids *Palmistichus elaeisis* and *Trichospilus diatraeae*. Plos One. **5**: 1-7. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013231

ASGARI S., RIVERS D.B. 2011. Venom proteins from endoparasitoid wasps and their role in host-parasite interactions. Annu. Rev. Entomol. **56**: 313–335. DOI: 10.1146/annurev-ento-120709-144849.

AVANCI M.R.F., FOERSTER L.A., CAÑETE C.L. 2005. Parasitismo natural em ovos de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera, Noctuidae) por *Trichogramma* spp. (Hymenoptera, Trichogrammatidae) no Brasil. Rev. Bras. Entomol. **49**: 148–151.

BAITHA A., JALALI S.K., RABINDRA R.J., VENKATESAN T., RAO N.S. 2004. Parasitizing efficiency of the pupal parasitoid, *Tetrastichus howardi* (Olli) (Hymenoptera: Eulophidae) on *Chilo partellus* (Swinhoe) at different exposure periods. J. Biol. Control. **18**: 65-68.

BARBOSA L.S., COURI M.S., AGUIAR-COELHO V.M. 2008. Development of *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae) in pupae of *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775) (Diptera: Calliphoridae), using different

densities of parasitoid. Biota Neotrop. **8**: 49-54. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/S1676-06032008000100005

BARBOSA R.H., KASSAB S.O., PEREIRA F.F., ROSSONI C., COSTA D.P, BERNDT M.A. 2015. Parasitism and biological aspects of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Erinnyis ello* (Lepidoptera: Sphingidae) pupae. Cienc. Rural. **45**: 185-188.

BARBOSA R.H., ZANUNCIO J.C., PEREIRA F.F., KASSAB S.O., ROSSONI C. 2016. Foraging activity of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) at various densities on pupae of the eucalyptus defoliator *Thyrinteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae). Fla. Entomol. **99**: 121-127. DOI: https://doi.org/10.1653/024.099.0417

BATISTELA M.J., BUENO A.F., NISHIKAWA M.A.N., BUENO R.C.O.F., HIDALGO G., SILVA L., CORBO E., SILVA R.B. 2012. Reevaluation of leaf-lamina consumer thresholds for IPM decisions in short-season soybeans using artificial defoliation. Crop. Prot. **32**: 7-11.

BECKAGE N.E., GELMAN D.B. 2004. Wasp parasitoid disruption ofhostdevelopment: Implications for New Biologically Based Strategies for Insect Control. Annu. Rev. Entomol. **49**: 299–330. DOI: 10.1146/annurev.ento.49.061802.123324.

BECKAGE N.E., TEMPLETON T.J. 1985. Temporal synchronization of emergence of *Hyposoter exiguae* and *H. fugitivus* (Hymenoptera: Ichneumonidae) with apolysis preceding larval molting in *Manduca sexta* (Lepidoptera: Sphingidae). Ann. Entomol. Soc. Am. **78**: 775–782.

BORTOLOTTO O.C., FERNANDES A.P., BUENO R.C.O.F., BUENO A.F., KRUZ Y.K.S., QUEIROZ A.P., SANZOVO A., FERREIRA R.B. 2015. O uso do manejo integrado de pestes de soja no Brasil: uma revisão. Agron. Sci. Biotechnol. **1**: 25-32.

BRODEUR J., BOIVIN G. 2004. Functional ecology of immature parasitoids. Annu. Rev. Entomol. **49**: 27–49.

BUENO A.F., BATISTELA M.J., BUENO R.C.O.F., FRANÇA-NETO J.B., NISHIKAWA M.A.N., FILHO A.L. 2011. Effects of integrated pest management, Biol. Control and prophylactic use of insecticides on the management and sustainability of soybean. Crop. Prot. **30**: 937–945.

BUENO A.F., PANIZZI A.R., CORRÊA-FERREIRA B.S., HOFFMANNCAMPO C.B., SOSA-GÓMEZ D.R., GAZZONI D.L., HIROSE E., MOSCARDI F., CORSO I.C., OLIVEIRA L.J., ROGGIA S. 2012a. Histórico e evolução do manejo integrado de pragas da soja no Brasil. (In: Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. C.B. HOFFMANN-CAMPO, CORRÊA-FERREIRA B.S., MOSCARDI F. ed. Brasília: Embrapa): 37-74.

BUENO A.F., SOSA-GÓMEZ D.R., CORRÊA-FERREIRA B.S., MOSCARDI F., BUENO R.C.O.F. 2012b. Inimigos naturais das pragas da soja. (In: Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. C.B. HOFFMANN-CAMPO, CORRÊA-FERREIRA B.S., MOSCARDI F. ed. Brasília: Embrapa): 493-629.

BUENO, A.F., PAULA-MORAES, S.V., GAZZONI, D.L., POMARI, A. F. 2013. Economic Thresholds in Soybean-Integrated Pest Management: Old Concepts, Current Adoption, and Adequacy. Neotrop. Entomol. **42**: 439-447. DOI: https://doi.org/10.1007/s13744-013-0167-8

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

CARTON Y., POIRIÉ M., NAPPI A.J. 2008. Insect immune resistance to parasitoids. Insect Sci. **15**: 67–87.

CHEN X.Y., HOPKINS R.J., ZHAO Y.P., HUANG G.H. 2017. A Place to Grow? Host Choice and Larval Performance of *Microplitis similis* (Hymenoptera: Braconidae) in the Host *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). Environ. Entomol. **46**: 642–648. DOI: https://doi.org/10.1093/ee/nvx076

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

CHOI W.I., YOON T.J., E RYOO M.I. 2001. Host-size dependent feeding behaviour and progeny sex ratio of *Anisopteromalus calandrae* (Hym.: Pteromalidae). J. Appl. Entomol. **125**: 71-77.

CONAB. 2018. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos: sexto levantamento, Safra 2017/18, v. 5, n. 6. Brasília. Pp. 140. File Online https://www.conab.gov.br/index.php/info-agro/safras/graos (Accessed: 10 Março 2018).

CÔNSOLI F.L., VINSON S.B. 2009. Parasitoides (Hymenoptera). (In: Bioecologia e nutrição de insetos. A.R. PANIZZI, J.R.P. PARRA ed Embrapa Informação Tecnológica, Brasília): 837-874.

CORRÊA-FERREIRA B.S., SOSA-GÓMEZ D.R., HOFFMANN-CAMPO C.B., ROGGIA S., HIROSE E., BUENO A. F. 2013. Monitoramento de pragas na cultura da soja - MIP Soja. Londrina: Embrapa Soja. File Online http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/112027/1/ficha-mip.2013.pdf (Accessed 10 Março 2018).

CORRÊA-FERREIRA B.S., SOSA-GÓMEZ D.R., HOFFMANN-CAMPO C.B., ROGGIA S., HIROSE E., BUENO A. F. 2013. Monitoramento de pragas na cultura da soja - MIP Soja. Londrina: Embrapa Soja. File Online http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/112027/1/ficha-mip.2013.pdf (Accessed Março 2018).

COSTA C., IDE S. 2006. Crescimento e muda. (In: Insetos imaturos: metamorfose e identificação. C. COSTA, IDE S., SIMONKA C.E. eds. Ribeirão Preto: Holos): 31-36.

COSTA D.P., PEREIRA F.F., KASSAB S.O., ROSSONI C., PASTORI P.L., ZANUNCIO J.C. 2014. *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) in different densities and periods of parasitism on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)

caterpillars. Ann. Entomol. Soc. Am. **107**: 961-966. DOI: http://dx.doi.org/10.1603/AN14014

COSTA, C.; IDE, S. Crescimento e muda. *In:* COSTA, C.; IDE, S.; SIMONKA, C.E. (Eds.). Insetos imaturos: metamorfose e identificação. Ribeirão Preto: Holos, 2006. p. 31-36.

CUSUMANO A., PERI E., BRADLEIGH V.S., COLAZZA S. 2010. Interspecific extrinsic and intrinsic competitive interactions in egg parasitoids. Biol. Control. **57**: 719-734.

DUDCZAK A.C., QUERINO R.B., FOERSTER M.R., FOERSTER L.A. 2017. First Occurrence of *Trichogramma bruni* Nagaraja (Hymenoptera: Trichogrammatidae) Parasitizing Eggs of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Erebidae) in Brazil. Neotrop. Entomol. **46**: 471-472. DOI: https://doi.org/10.1007/s13744-017-0521-3.

FAVERO K., PEREIRA F.F., KASSAB S.O., OLIVEIRA H.N., COSTA D.P., ZANUNCIO J.C. 2013. Biological characteristics of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) are influenced by the number of females exposed per pupa of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). Fla. Entomol. **96**: 583-589. DOI: https://doi.org/10.1653/024.096.0224

FAVERO K., PEREIRA F.F., TORRES J.B., DE OLIVEIRA H.N., KASSAB S.O., ZANUNCIO, J.C. 2015. Reproduction of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) in *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) pupae at different temperatures. Fla. Entomol. **98**: 865-869. DOI: https://doi.org/10.1653/024.098.0308

FIDGEN J.G., EVELEIGH E.S., QUIRING D.T. 2000. Influence of host size on oviposition behaviour and fitness of *Elachertus cacoeciae* attacking a low-density population of spruce budworm *Choristoneura fumiferana* larvae. Ecol. Entomol. **25**: 156-164.

FRANCISCO L.M.L. 2016. Parasitismo e desenvolvimento de *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: eulophidae) na lagarta-da-soja *Anticarsia gemmatalis* (Hubner, 1818) (Lepidoptera: Erebidae). Unpublished. Trabalho de conclusão de curso,

Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, UFGD, Dourados. Pp. 32.

GADALLAH N.S., YEFREMOVA Z.A., YEGORENKOVA E.N., SOLIMAN A.M., EL-GHIET U.M.A., EDMARDASH Y.A., EDMARDASH Y.A. A review of the family Eulophidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) of Egypt, with thirty three new records. Zootaxa **4058**: 66–80. DOI:10.11646/zootaxa.4058.1.3.

GODFRAY H.C.J. 1994. Parasitoids: Behavioral and Evolutionary Ecology. Princeton University Press, Princeton, NJ, USA. Pp. 488.

GONZÁLEZ J.F.A., OCA F.N.M., RAVELO H.G. 2003; Estudios bioecológicos de *Tetrastichus howardi* Olliff. (Hymenoptera: Eulophidae), parásito pupal de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) en Cuba. (Primera parte). Centro Agricola. **30**: 37-41.

GREENE G.L., LEPPLA, N. C.; DICKERSON, W. A. 1976. Velvet bean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. J. Econ. Entomol. **69**: 487-488.

HARVEY J.A., MALCICKA M. 2016. Nutritional integration between insect hosts and koinobiont parasitoids in an evolutionary framework. Entomol. Exp. Appl. **159**: 181-188. DOI: 10.1111/eea.12426

HARVEY J.A., POELMAN E.H., TANAKA, T. 2013. Intrinsic Inter- and Intraspecific Competition in Parasitoid Wasps. Annu. Rev. Entomol. **58**: 333-351. DOI: https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153622

HEIMPEL G.E., MANGEL M., ROSENHEIM J.A. 1998. Egg Limitation in Parasitoids: A Review of the Evidence and a Case Study. Biol. Control. **11**: 160-168. DOI: 1049-9644/98

HERNÁNDEZ JV., OSBORN F., HERRERA B., LIENDO-BARANDIARAN C.V., PEROZO J., VELÁSQUEZ D. 2009. Parasitoides Larva-Pupa de *Hylesia metabus* Cramer (Lepidoptera: Saturniidae) en la Región Nororiental de Venezuela: un Caso de Control Biológico Natural. Neotrop. Entomol. **38**: 243-250.

HOFFMANN-CAMPO C.B., CORRÊA-FERREIRA B.S., MOSCARDI F. 2012. Soja: Manejo Integrado de Insetos e outros Artrópodes-Pragas. Embrapa Soja. Brasília, DF. Pp. 859.

HOFFMANN-CAMPO C.B., DE OLIVEIRA, E.B., MOSCARDI F. 1985. Criação massal da lagarta da soja (*Anticarsia gemmatalis*). EMBRAPA-Centro Nacional de Pesquisa da Soja. Londrina, Documentos 10. Pp. 21.

HOOD G., EGAN S., FEDER J. 2012. Interspecific competition and speciation in endoparasitoids. Evol. Biol. **39**: 219–230.

HU J.S., VINSON S.B. 2000. Interaction between the larval endoparasitoid *Campoletis sonorensis* (Hymenoptera: Ichneumonidae) and its host the tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae). Ann. Entomol. Soc. Am. **93**: 220-224.

JERVIS M., FERNS P. 2011. Towards a general perspective on life-history evolution and diversification in parasitoid wasps. Biol. J. Linnean Soc. **104**: 443–461. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2011.01719.x

KARINDAH S., SULTANTO E.S., SULISTYOWATI L. 2005. Parasitoid larva-pupa *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) pada *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) di pertanaman kubis kota batu dan kabupaten malang. J. Entomol. Indonesia. **2**: 61-68,

KFIR R., GOUWS J., MOORE S. 1993. D. Biology of *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae): a facultative hyperparasitoid of stem borers. Biocontrol Sci. Techn. **3**: 149-159.

KHAFAGI W.E., HEGAZI E.M. 2008. Does superparasitism improve host suitability for parasitoid development? A case study in the *Microplitis rufiventris-Spodoptera littoralis* system. Biol. Control. **53**: 427–438. DOI:10.1007/s10526-007-9078-0

KUMAR A., BAITHA A., BARELIYA P.K. 2016. Some biological aspects of pupal parasitoid, *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) on *Chilo auricilius* (Dudgeon) pupae. Curr. Biot. **10**: 170-174.

LA SALLE J., POLASZEK, A. 2007. Afrotropical species of the *Tetrastichus howardi* species group (Hymenoptera: Eulophidae). African Entomol. **15**: 45-56. DOI: 10.4001/1021-3589-15.1.45

MACKAUER M., SEQUEIRA R. 1993. Patterns of development in insect parasites. (In: Parasites and Pathogens of Insects. N.E. BECKAGE, S.N. THOMPSON & B.A. FEDERICI. ed Academic Press, New York): 1–23.

MAWELA K.V., KFIR R., K. KRUGER. 2013. Effect of temperature and host species on parasitism, development time and sex ratio of the egg parasitoid *Trichogrammatoidea lutea* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Biol. Control. **64**: 211–216.

MAYHEW P.J. 2016. Comparing parasitoid life histories. Entomol. Exp. Appl. **159**: 147-162. DOI: https://doi.org/10.1111/eea.12411

MIRONIDIS G.K., SAVOPOULOU-SOULTANI M. 2009. Development, survival and growth rate of the *Hyposoter didymator–Helicoverpa armigera* parasitoid–host system: Effect of host ínstar at parasitism. Biol. Control. **49**: 58–67.

MONTEIRO L.B., SOUZA A., PASTORI P.L. 2006. Comparação econômica entre o controle biológico e químico para o manejo de ácaro-vermelho em macieira. Rev. Bras. Frutic. **28**: 514-517.

MOREAU S., ASGARI S. 2015. Venom Proteins from Parasitoid Wasps and Their Biological Functions. Toxins. **7**: 2385–2412. DOI: 10.3390/toxins7072385

MOREIRA M.D., SANTOS M.C.F., BESERRA E.B., TORRES J.B., ALMEIDA R.P. 2009. Parasitismo e superparasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Sitotroga cerealella* (Oliver) (Lepidoptera: Gelechiidae). Neotrop. Entomol. **38**: 237–242.

MOSCARDI F., BUENO A.F., SOSA-GÓMEZ D.R., ROGGIA S., HOFFMAN-CAMPO C.B., POMARI A.F., CORSO I.V., YANO S.A.C. 2012. Artrópodes que atacam as folhas da soja. (In: Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-

praga. C.B. HOFFMAN-CAMPO, CORRÊA-FERREIRA B.S., MOSCARDI F. ed. Brasília: Embrapa. Cap.4): 213-334.

NALINI M., IBRAHIM A.M.A., HWANG I., KIM Y. 2009. Altered actin polymerization of *Plutella xylostella* (L.) in response to ovarian calyx components of an endoparasitoid *Cotesia plutellae* (Kurdjumov). Physiol. Entomol. **34**: 110–118.

NAPPI A.J., CHRISTENSEN B.M. 2005. Melanogenisis and associated cytotoxic reactions, applications to insect innate immunity. Insect Biochem. Mol. Biol. **35**: 443-459.

PANIZZI A.R., OLIVEIRA L.J., SILVA, J.J. 2004. Survivorship, larval development and pupal weight of *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) feeding on potential leguminous host plants. Neotrop. Entomol. **33**: 563-567. DOI: 10.1590/S1519- 566X2004000500004

PAPAJ D. R. 2000. Ovarian dynamics and host use. Annu. Rev. Entomol. **45**: 423-448.

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

PASTORI P.L., PEREIRA F.F., ANDRADE G.S., SILVA R.O., ZANUNCIO J.C., PEREIRA A.I.A. 2012. Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) in pupae of two lepidopterans defoliators of eucalypt. Rev. Col. Entomol. **38**: 91-93.

PEDIGO L.P., HUTCHINS S.H., HIGLEY L.G. 1986. Economic Injury Levels in Theory and Practice. Annu. Rev. Entomol. **31**: 341-68.

PENNACCHIO F., STRAND M.R. 2006. Evolution of developmental strategies in parasitic Hymenoptera. Annu. Rev. Entomol. **51**: 233-258.

PEREIRA F.F., ZANUNCIO J.C., OLIVEIRA H.N., GRANCE E.V., PASTORI P.L., GAVA-OLIVEIRA M.D. 2011. Thermal requirements and estimate number of generations of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) in different *Eucalyptus* plantations regions. Braz. J. Biol., **71**: 431-436.

PEREIRA F.F., ZANUNCIO J.C., PASTORI P.L., PEDROSA A.R., OLIVEIRA H.N. 2010a. Parasitismo de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) em hospedeiro alternativo sobre plantas de eucalipto em semi-campo. Rev. Ciênc. Agron. **41**:715-720. DOI: 10.1590/S1806-66902010000400028.

PEREIRA F.F., ZANUNCIO J.C., SERRÃO J.E., OLIVEIRA H.N. de., FAVERO K., GRANCE E.L.V. 2009. Progênie de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenopetera: Eulophidae) parasitando pupas de *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) de diferentes idades. Neotrop. Entomol. **38**: 660-664.

PEREIRA F.F., ZANUNCIO J.C., SERRÃO J.E., ZANUNCIO T.V., PRATISSOLI D., PASTORI P.L. 2010b. The density of females of *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). An. Acad. Bras. Cienc. **82**: 323-331. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/S0001-37652010000200008

PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; CALADO, V. R. F.; VARGAS, E. L.; OLIVEIRA, H. N.; ZANUNCIO, J. C. 2015. Parasitism and emergence of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) larvae, pupae and adults. Fla. Entomol. **98**: 377-380.

PEXTON J.J., MAYHEW P.J. 2002. Siblicide and life history evolution in parasitoids. Behav. Ecol. **13**: 690–695.

PIÑEYRO N.G., PEREIRA F.F., BORGES F.L.G., ROSSONI C., SILVA A.S., KASSAB S.O. 2016. ¿Multiplicar *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) en la oruga de la seda afecta su biología?. Acta biol. Colomb. **21**: 189-193. DOI: http://dx.doi.org/10.15446/abc.v21n1.47999.

PRASAD K.S., ARUNA A.S., KUMAR V., KARIAPPA B.K. 2007, Feasibility of mass production of *Tetrastichus howardi* (Olli), a parasitoid of leaf roller (*Diaphania pulverulentalis*), on *Musca domestica* (L.). Indian J. Sericicult. **46**: 89-91.

RIDDICK E.W. 2008. Sting frequency and progeny production of lab- -cultured *Cotesia marginiventris*. Biol. Contr. **53**: 295-302.

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

ROYER L., FOURNET S., BRUNEL E., BOIVIN G. 1999. Intra- and interspecific host discrimination by host-seeking larvae of coleopteran parasitoids. Oecologia. **118**: 59-68.

SAGARRA L.A., VICENT C., STEWART R.K. 2001. Body size as an indicator of parasitoid quality in male and female *Anagyrus kamali* (Hymenoptera: Encyrtidae). Bull. Entomol. Res. **91**: 363-367.

SCHMID-HEMPEL P. 2005. Evolutionary ecology of insect immune defenses. Annu. Rev. Entomol. **50**: 529-551.

SEGOLI M., SUN S., NAVA D.E., ROSENHEIM J.A. 2018. Factors shaping life history traits of two proovigenic parasitoids. Integr. Zool. **13**: 297-306. DOI:10.1111/1749-4877.12295

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

SOARES M.A., GUTIERREZ C.T., ZANUNCIO, J.C., PEDROSA A.R.P., LORENZON A.S. 2009. Superparasitismo de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) y comportamiento de defensa de dos hospederos. Rev. Colomb. Entomol. **35**: 62-65.

STRAND M.R., PECH L.L. 1995. Immunological basis for compatibility in parasitoid host relationships. Annu. Rev. Entomol. **40**: 31–56.

STRAND,M. R. 2008. The insect cellular immune response. Insect Sci. **15**: 1-14. DOI:10.1111/j.1744-7917.2008.00183.x

UCKAN F., SINAN S., SAVASCI S., ERGIN E. 2004. Determination of venom components from the endoparasitoid wasp *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae). Ann. Entomol. Soc. Am. **97**: 775-780.

VALVERDE L., VIRLA E.G., QUERINO R.B. 2009. Primera cita de *Trichogramma bruni* Nagaraja (Hymenoptera: Trichogrammatidae) en el cultivo de soja del noroeste argentino (Tucumán), con mención de un nuevo hospedador. Bol. Sanid. Veg. Plagas. **35**: 25–27.

VAN ALPHEN J.J.M., VISSER M.E. 1990. Superparasitism as an adaptive strategy for insect parasitoids. Annu. Rev. Entomol. **35**: 59-79.

VAN LENTEREN J.C., BOLCKMANS K., KOHL J., RAVENSBERG W.J., URBANEJA A. 2018. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. Bio. Control. **63**: 39-59. DOI: 10.1007/s10526-017-9801-4

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

WU M.L., YE G.Y., ZHU J.Y., CHEN X.X., HU C. 2008. Isolation and characterization of an immunosuppressive protein from venom of the pupa-specific endoparasitoid *Pteromalus puparum*. J. Invertebr. Pathol. **99**: 186–191.

ZACHÉ B., WILCKEN C.F., DA COSTA R.R., SOLIMAN E.P. 2010. *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae), a new parasitoid of *Melanolophia consimilaria* (Lepidoptera: Geometridae). Phytoparasitica. **38**: 355–357.

ZACHÉ B., ZACHÉ R.R.C., WILCKEN C.F. 2012. Evaluation of *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) as parasitoid of the *Sarsina violascens* Herrich-Schaeffer (Lepidoptera: Lymantriidae). J. Plant Stud. **1**: 85-89.

ZANUNCIO JUNIOR J.S., VIANNA U.R., ZANUNCIO J.C., PEREIRA F.F. 2012. Técnica de criação de *Anticarsia gemmatalis* Hubner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae). (In: Técnicas de criação de pragas de importância agrícola, em dietas naturais. D. PRATISSOLI ed. EDUFES, Vitória): 241-250.

ZAVIEZO T., MILLS N. 2000. Factors influencing the evolution of clutch size in a gregarious insect parasitoid. J. Anim. Ecol. **69**: 1047-1057.

ZHENG Y.H., ZHENG L.X., LIAO Y.L., WU W.J. 2016. Sexual dimorphism in antennal morphology and sensilla ultrastructure of a pupal endoparasitoid *Tetrastichus howardi* Olliff (Hymenoptera: Eulophidae). Micros. Res. Tech. **79**: 374–384.

ZHONG L., LIAO Y., ZHANG Y. WU W. 2016. Ovarian development and oogenesis in *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae). J. Environ. Entomol. **38**: 154-158.

Tabela 01. Características biológicas (Média ± EP) de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em lagartas de 4º ínstar de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae) com diferentes densidades de fêmeas do parasitoide, em condições de laboratório, a temperatura de 25±2 ºC, 70±10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas

	Relação Parasitoide: Hospedeiro	Parasitismo (%)	(n)	Emergência (%)	(n)	Duração do Ciclo de vida (dias)	(n)	Progênie Total (nº de insetos emergidos)	(n)	Progênie/ Fêmea	(n)	Razão Sexual	(n)	Longevidade (dias)	
														Machos n (10)	Fêmeas n (15)
1	Densidade 1:1	56,00 ± 7,48	5	91,67 ± 8,33	3	25,22 ± 1,24	3	73,11 ± 8,89	3	69,67 ± 8,67	3	0,96 ± 0,01	3	9,90 ± 0,67	7,73 ± 0,47
2	Densidade 5:1	76,00 ± 7,48	5	73,40 ± 13,79	5	20,61 ± 0,93	5	191,55 ± 37,13	5	36,19 ± 7,04	5	0,94 ± 0,01	5	14,40 ± 1,9	10,20 ± 0,99
3	Densidade 10:1	80,00 ± 0,00	5	75,00 ± 10,21	4	19,73 ± 0,47	4	271,88 ± 38,44	4	24,75 ± 3,41	4	0,91 ± 0,01	4	13,60 ± 0,96	9,10 ± 1,08
4	Densidade 15:1	80,00 ± 6,32	5	52,33 ± 7,88	3	21,50 ± 1,32	3	216,17 ± 76,59	3	13,02 ± 4,72	3	0,91 ± 0,01	3	14,40 ± 1,98	10,40 ± 0,90
5	Densidade 20:1	84,00 ± 4,00	5	60,00 ± 8,90	4	22,08 ± 0,47	4	106,71 ± 22,77	4	4,81 ± 0,90	4	0,93 ± 0,03	4	11,50 ± 1,08	10,13 ± 0,56
6	Densidade 25:1	92,00 ± 8,00	5	80,00 ± 10,95	5	20,93 ± 0,85	5	271,48 ± 79,90	5	8,32 ± 2,27	5	0,83 ± 0,05	5	15,60 ± 1,05	9,33 ± 0,59
	P	0,0176		ns		0,0251		ns		0,0046		0,0489		ns	Ns
	C.V. (%)	17,83		31,19		8,27		55,82		41,06		6,42		31,98	32,74

(n) – número de repetições
ns – Não significativo pela análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de probabilidade.
C.V. – Coeficiente de variação.

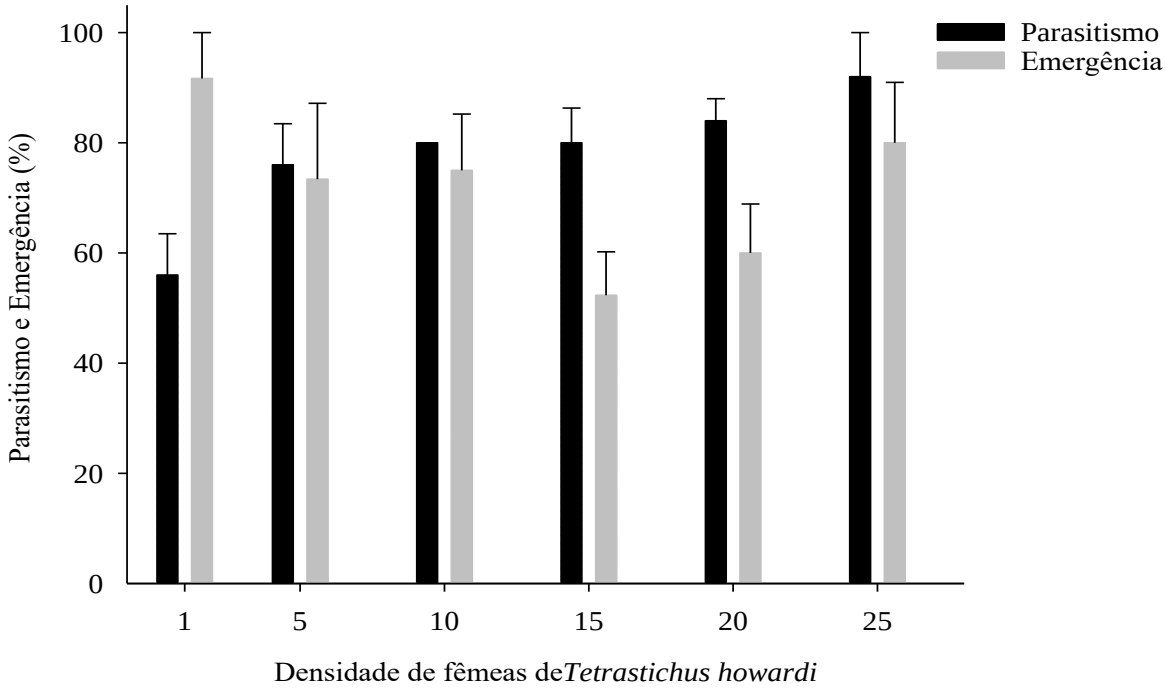


Figura 1. Porcentagem de parasitismo e emergência de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em função da densidade de fêmeas por lagarta de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae).

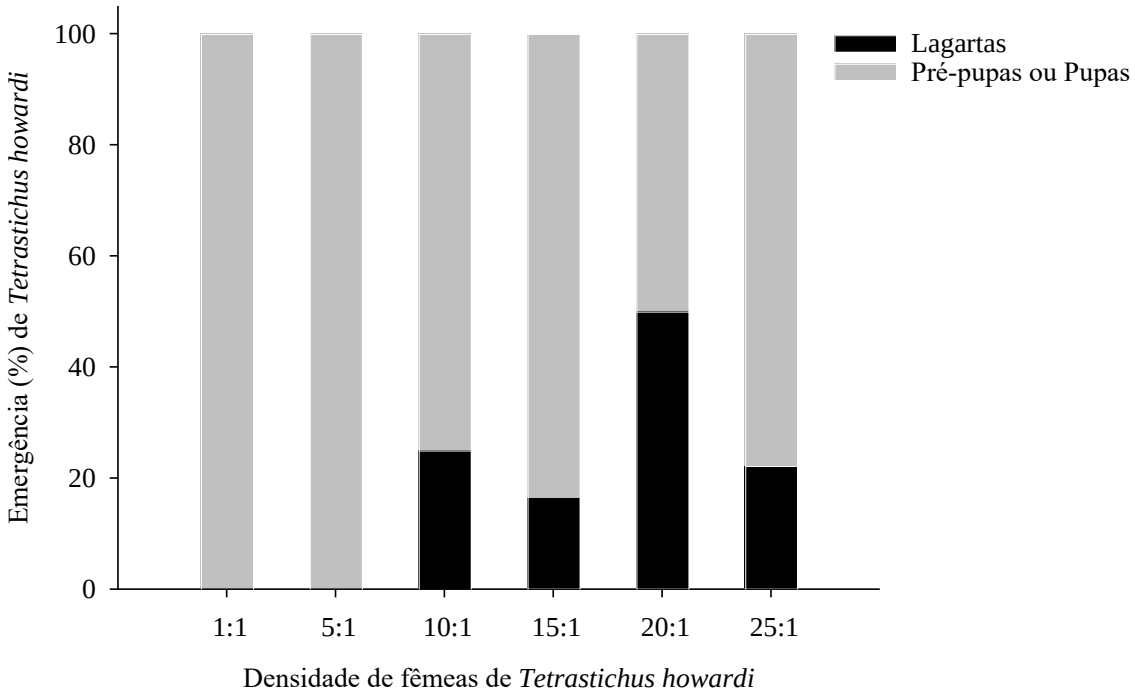


Figura 2. Porcentagem de emergência de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) proveniente de diferentes fases de desenvolvimento de *Anticarsia gemmatalis*, em função da densidade de fêmeas parasitoides.

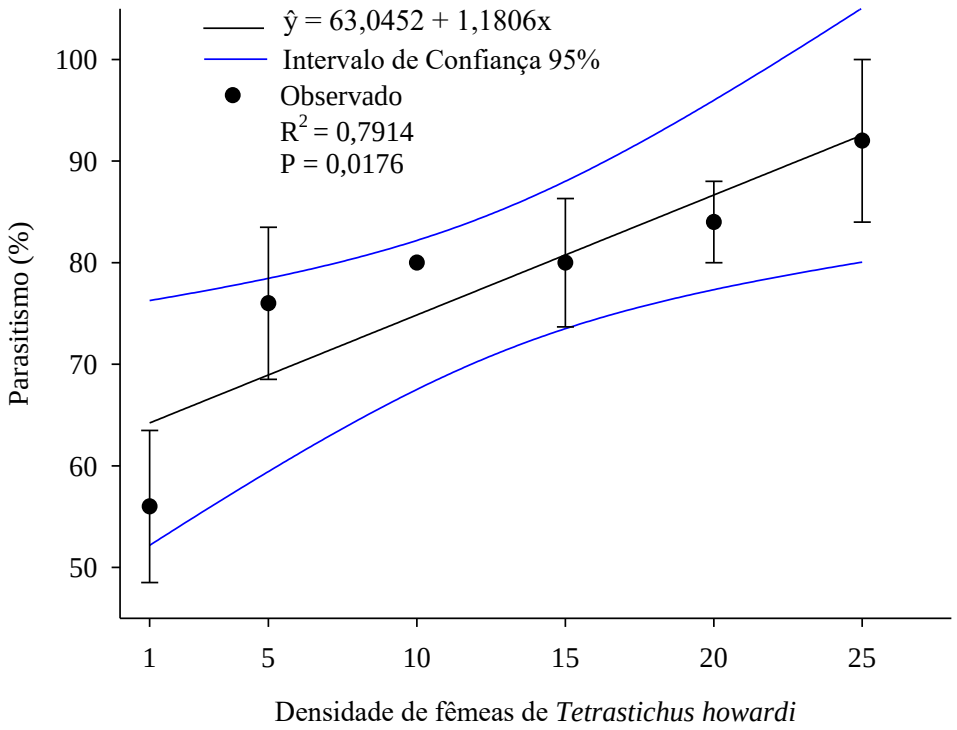


Figura 3. Porcentagem de parasitismo de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em função da densidade de fêmeas por lagarta de 4º ínstar de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae), a temperatura de 25±2ºC, 70±10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas. (P = 0,0176 e F = 15,1774).

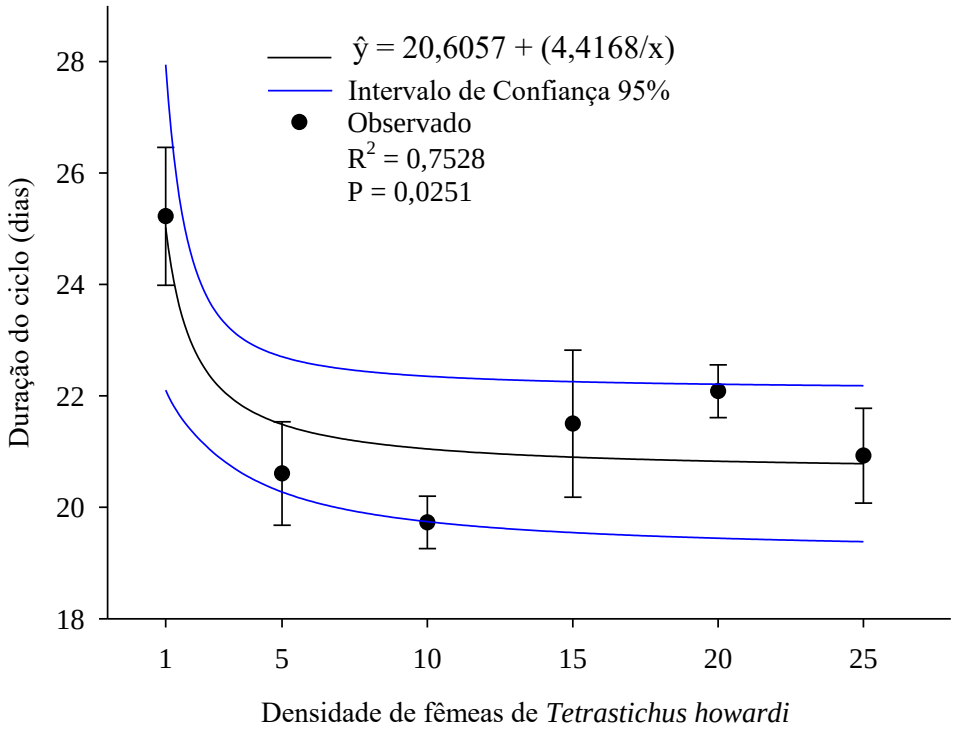


Figura 4. Duração do ciclo (ovo-adulto) de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em função da densidade de fêmeas por lagarta de 4º ínstar de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae), a temperatura de 25±2ºC, 70±10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas. (P = 0,0251 e F = 12,1791).

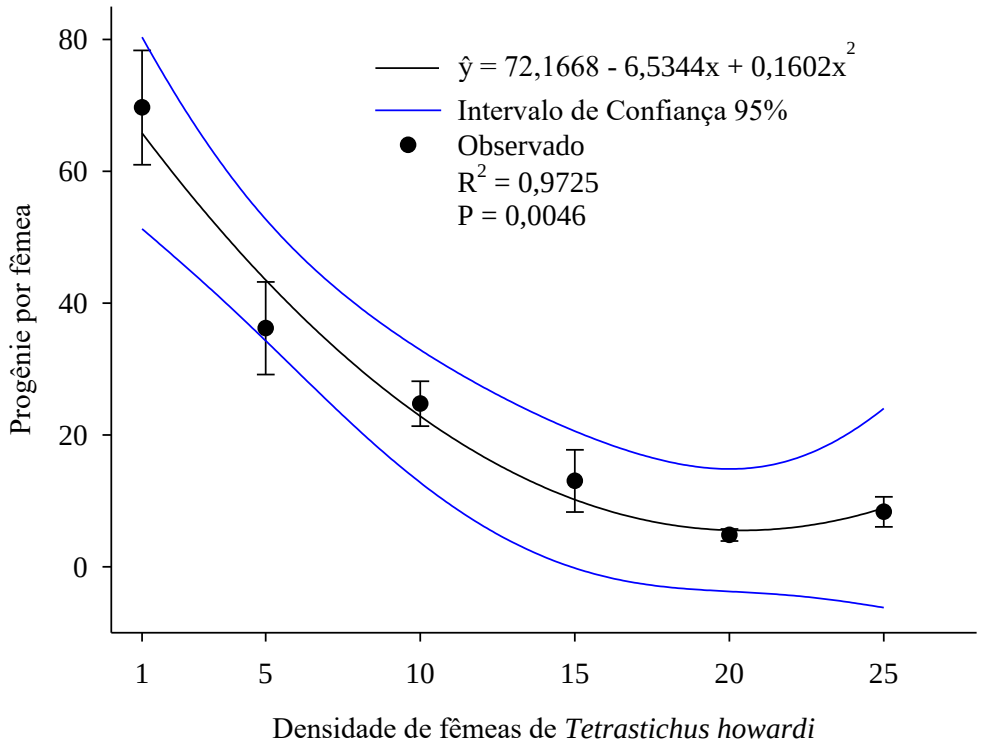


Figura 5. Progênie por fêmeas (fêmeas produzidas por fêmeas) de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em função da densidade de fêmeas por lagarta de 4º ínstar de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae), a temperatura de 25±2ºC, 70±10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas. (P = 0,0046 e F = 52,9604).

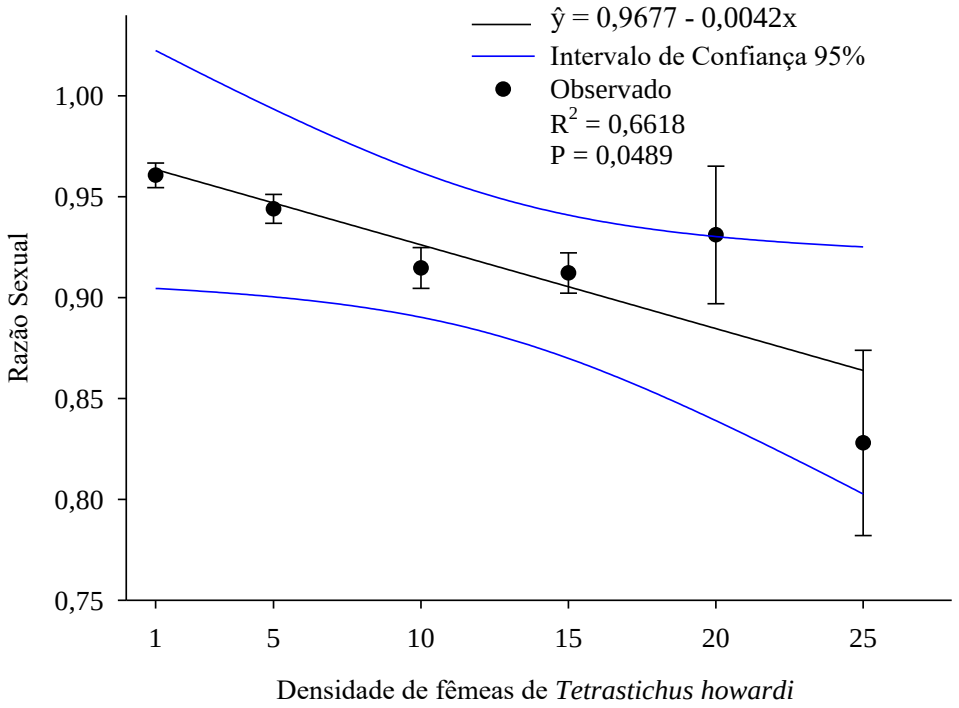


Figura 6. Razão Sexual de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em função da densidade de fêmeas por lagarta de 4º ínstar de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae), a temperatura de 25±2ºC, 70±10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas. (P = 0,0489 e F = 7,8282).

Capítulo II

Reprodução de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pré-pupas e pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae) expostas a diferentes densidades do parasitoide

RESUMO[3]

Investigar técnicas de produção em larga escala de inimigos naturais é base para programas de controle biológico. Objetivou-se avaliar a reprodução de *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) em pré-pupas e pupas do hospedeiro alternativo *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Erebidae) com diferentes densidades de fêmeas do parasitoide. Os bioensaios foram conduzidos no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Pré-pupas e pupas foram expostas ao parasitismo por fêmeas de *T. howardi* com diferentes densidades (1:1, 5:1, 10:1, 15:1, 20:1 ou 25:1, parasitoide: hospedeiro). Após 24 horas, as fêmeas parasitoides foram removidas e os hospedeiros foram transferidos para tubos de vidro (15x1 cm) mantidos a 25 ± 1ºC, 70 ± 10% UR. No bioensaio com pré-pupas, o parasitismo e a emergência foram de 80 ± 6,32% e 80,40 ± 8,35% na densidade com 1 fêmea, respectivamente, e nas demais houve 100 ± 0,00% de parasitismo e de emergência. A duração do ciclo de vida (ovo-adulto) decresceu com o aumento da densidade e variou de 21,33 ± 0,48 a 16,44 ± 0,12 dias. A progênie total variou de 47,27 ± 4,43 (1:1) a 389,40 ± 4,03 descendentes (25:1). A razão sexual foi semelhante, com média geral de 0,85 ± 0,02. A longevidade de fêmeas média foi de 8,74 ± 0,85 dias e a longevidade de machos variou de 8,6 ± 0,86 (1:1) a 17,4 ± 2,17 (25:1) dias. No bioensaio com pupas, observou-se 70,00 ± 5,77 (1:1) e 92,00 ± 4,90% (5:1) de parasitismo. A emergência foi de 77,25 ± 7,81% na densidade 1:1. A duração do ciclo de vida (ovo-adulto) variou de 15,96 ± 0,07 a 23,58 ± 0,49 dias, decrescendo com o aumento da densidade. A progênie variou de 41,06 ± 2,51 a 414 ± 3,98 descendentes por pupa, com maior resultado na densidade 25:1. A maior razão sexual foi de 0,97 ± 0,01 (1:1). A longevidade média para fêmeas foi de 9,48 ± 0,63 dias e para machos houve variação de 7,80 ± 0,81 dias a 21,20 ± 1,53 dias. *T. howardi* parasitou com êxito pré-pupas e pupas de *A. gemmatalis*, permitindo-nos considerar a faixa de 5 a 10 fêmeas de *T. howardi*, como a mais indicada para a multiplicação desse parasitoide em laboratório.

Palavras-chave: Controle biológico; endoparasitoide; hospedeiro alternativo; produção massal; lagarta-da-soja.

[3] Este Capítulo segue as normas da Revista FOLIA BIOLOGICA (Kraków).

ABSTRACT

Investigate production techniques in large-scale is essential for biological control programs. The objective of this study was to evaluate the reproduction of *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) in alternative host *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Erebidae) pre-pupae and pupae with different host densities in laboratory. The bioassays were conducted at the Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) of the Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). The bioassays were conducted at the Insect Biological Control Laboratory (LECOBIOL) of the Federal University of Grande Dourados (UFGD). Pre-pupae and pupae were exposed to parasitism by *T. howardi* at different densities (1: 1, 5: 1, 10: 1, 15: 1, 20: 1 or 25: 1, parasitoid: host). After 24 hours, the parasitoid females were removed and the hosts were transferred to glass tubes (15x1 cm) at 25 ± 1 ° C, 70 ± 10% RH. In the pre-pupae bioassay, parasitism and emergence were 80 ± 6.32% and 80.40 ± 8.35% in density with 1 female, respectively, and in the others there were 100 ± 0.00% parasitism and emergence. Life-cycle duration (egg-adult) decreased with increasing density and ranged from 21.33 ± 0.48 to 16.44 ± 0.12 days. Total progeny ranged from 47.27 ± 4.43 (1: 1) to 389.40 ± 4.03 progeny (25: 1). The sex ratio was similar, with a mean 0.85 ± 0.02. Mean female longevity was 8.74 ± 0.85 days and male longevity ranged from 8.6 ± 0.86 (1: 1) to 17.4 ± 2.17 (25: 1) days. In the bioassay with pupae were observed 70.00 ± 5.77 (1: 1) and 92.00 ± 4.90% (5: 1) of parasitism. The emergence was 77.25 ± 7.81% in the 1: 1 density. Life-time (egg-adult) ranged from 15.96 ± 0.07 to 23.58 ± 0.49 days, decreasing with increasing density. The progeny ranged from 41.06 ± 2.51 to 414 ± 3.98 progeny per pupa, with the highest result at 25 females: 1 density. The highest sex ratio was 0.97 ± 0.01 (1: 1). The mean longevity for females was 9.48 ± 0.63 days and for males there was variation from 7.80 ± 0.81 days to 21.20 ± 1.53 days. *T. howardi* successfully parasitized *A. gemmatalis* pre-pupae and pupae, allowing us to consider the range of 5 to 10 females of *T. howardi*, the most suitable for the multiplication of this parasitoid in the laboratory.

Keywords: Biological control; endoparasitoid; alternative host; mass production; soybean caterpillar.

1. INTRODUÇÃO

Os agentes e controle biológico, sobretudo os parasitoides são insetos valiosos na supressão de populações de artrópodes-praga, seja por meio do controle biológico natural ou aplicado, pois são especializados em regular populações de insetos-praga, e por isso destacam-se como principal grupo de inimigos naturais nos sistemas de produção agrícola (PARRA 2014; MOREAU & ASGARI 2015; VAN LENTEREN *et. al.* 2018).

Tetrastichus howardi (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoide originário da Ásia, está presente em países como África do Sul, Austrália, Cuba e tem seu recente registro no Brasil, desenvolvendo-se em pupas das famílias de Lepidoptera, como Crambidae (CRUZ *et. al.* 2011; PEREIRA *et. al.* 2015), Sphingidae (BARBOSA *et. al.* 2015), Plutellidae (SILVA-TORRES *et. al.* 2010), Noctuidae e Pyralidae, e por ser uma espécie generalista demonstra seu potencial no controle de pragas (KFIR *et. al.* 1993; MOORE & KFIR 1995; GONZÁLEZ *et. al.* 2003; BAITHA *et. al.* 2004; LA SALLE & POLASZEK 2007; SILVA-TORRES *et. al.* 2010; VARGAS *et. al.* 2011; BARBOSA *et. al.* 2015; OLIVEIRA *et. al.* 2016).

O endoparasitoide *T. howardi* tem sua importância como agente potencial no controle biológico de diferentes lepidópteros-praga de importância agrícola, principalmente por suas características intrínsecas de ser polífago e ter seu desenvolvimento gregário (BAITHA *et. al.* 2004; PRASAD *et. al.* 2007; LA SALLE & POLASZEK 2007). Seu diferencial está relacionado a sua capacidade de parasitar diferentes fases de desenvolvimento do hospedeiro, tais como larvas, pupas e adultos do hospedeiro natural *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) (VARGAS *et. al.* 2011; COSTA *et. al.* 2014b; PEREIRA *et. al.* 2015).

A multiplicação do agente de controle biológico em criações massais, representa o alicerce para a implementação de programas de controle biológico, fazendo com que estes se consolidem como parte fundamental para a implementação do manejo integrado de pragas agrícolas (BAITHA & MAURYA 2012; VARGAS *et. al.* 2013; PARRA 2014). A escolha do hospedeiro alternativo adequado é um fator de grande importância nesse processo, refletindo na qualidade da produção e na criação massal de parasitoides (PARON & BERTI-FILHO 2000; ZANUNCIO *et. al.* 2008; PEREIRA *et. al.* 2010a,b).

A utilização de hospedeiros alternativos é vantajosa, devido ao seu baixo custo, facilidade no processo de produção, alta capacidade de reprodução e sem afetar a eficiência do inimigo natural no campo (MILWARD-DE-AZEVEDO *et. al.* 2004; PARRA & CÔNSOLI 2009; ZANUNCIO *et. al.* 2008; HERNÁNDEZ *et. al.* 2009; PASTORI *et. al.* 2012a). As pupas de *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae), de *Bombyx mori* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Bombycidae) e de *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae) são hospedeiros alternativos estabelecidos para a multiplicação de *T. howardi*, por propiciarem alta progênie por hospedeiro, sem reduzir a eficácia de parasitismo posteriormente no hospedeiro natural *D. saccharalis* (ZANUNCIO *et. al.* 2008; PIÑEYRO *et. al.* 2016; OLIVEIRA *et. al.* 2016).

Determinar a proporção ideal de fêmeas de *T. howardi* por pré-pupa e pupa hospedeira, com base na avaliação dos parâmetros biológicos reprodutivos é essencial para a adequação de técnicas de multiplicação em grande escala que visam aprimorar a produção desse inimigo natural (BARBOSA *et. al.* 2008; PEREIRA *et. al.* 2010b; PASTORI *et. al.* 2012a,b; FAVERO *et. al.* 2013; KUMAR *et. al.* 2016a).

Anticarsia gemmatalis Hübner, 1818 é praga-chave da cultura da soja (PANIZZI *et. al.* 2004; BORTOLOTTO *et. al.* 2015), a qual pode ser criada com facilidade em dieta artificial (GREENE *et. al.* 1976) e suas lagartas que se alimentam de folhas de soja, podendo ser parasitadas por fêmeas de *T. howardi* em condições de laboratório (FRANCISCO 2016; FERNANDES *et. al.* 2018) e de semi-campo (FERNANDES *et. al.* 2018), o que abre a possibilidade do uso desse inimigo natural como agente de controle biológico dessa praga *A. gemmatalis* na cultura da soja.

Pupas e pré-pupas de *A. gemmatalis* ficam geralmente no solo (LEE & JOHNSON 1990), fato que impede fêmeas de *T. howardi* encontrá-las e parasitá-las. Mas em laboratório, estas fases do hospedeiro podem ser parasitadas por *T. howardi*. Sabe-se que existe diferença na progênie final, quando se coloca diferentes quantidades de fêmeas de eulofídeos por pupa em um recipiente e que este fator biológico, também é alterado de acordo com a espécie de hospedeiro utilizada (BARBOSA *et. al.* 2008; PEREIRA *et. al.* 2010b; PASTORI *et. al.* 2012; FAVERO *et. al.* 2013; COSTA *et. al.* 2014b; BARBOSA *et. al.* 2016; OLIVEIRA *et. al.* 2018).

Isto nos motivou a determinar a quantidade ideal de fêmeas de *T. howardi* por pupas e pré-pupas *A. gemmatalis* em laboratório para a reprodução desse parasitoide em maior quantidade e com qualidade biológica satisfatória.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os bioensaios foram conduzidos no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL), da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

2.1 Multiplicação do hospedeiro *Anticarsia gemmatalis*

Ovos de *A. gemmatalis* foram retirados da criação do LECOBIOL e acondicionados em potes de plástico de 1 L, contendo dieta artificial específica para a espécie a base de feijão cozido, germe-de-trigo, proteína de soja, caseína e levedura de cerveja (ANEXO 1) para alimentação das lagartas recém eclodidas (adaptada de Greene *et. al.* 1976). As lagartas permaneceram se alimentando da dieta reposta diariamente, em grupos de no máximo 50 indivíduos/pote, até completarem o quinto ínstar de desenvolvimento.

As pré-pupas foram individualizadas em potes plásticos transparentes (retangular de 500 mL e 14,2 × 9,8 × 4,7 cm) onde permaneceram até se transformarem em pupa. Aproximadamente 50 pupas foram separadas para atingirem a fase adulta em sala separada.

As pupas foram sexadas, e os adultos recém-emergidos foram transferidos para gaiolas de PVC de 15 cm de diâmetro x 22 cm altura (DN 150), na relação sexual de 1:1 e alimentados com dieta líquida a base de mel e açúcar embebida em algodão (ANEXO 2). As gaiolas foram revestidas internamente com folhas de papel sulfite, na qual as mariposas utilizaram como substrato para oviposição.

Os ovos foram coletados para manutenção da criação e armazenados em sala climatizada à 25 ± 2ºC, umidade relativa (UR) de 70 ± 10% e fotofase de 12 horas. Os procedimentos utilizados na criação de *A. gemmatalis* estão de acordo com a metodologia proposta Zanuncio Junior *et. al.* (2012), com dieta de Greene *et. al.* (1976), adaptada por Hoffmann-Campo *et. al.* (1985) (ANEXO 4).

2.2 Criação do parasitoide *Tetrastichus howardi*

O parasitoide foi coletado na Fazenda experimental da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) (22º13’16”S, 54º48’2”W, 530 m), em pupa de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) proveniente de colmo de cana-

de-açúcar, em dezembro de 2010. Os “espécimes vouchers” estão depositados na Coleção Entomológica da UFES, Departamento de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Espírito Santo (VARGAS *et. al.* 2011), Av. Fernando Ferrari, 514, Prédio Ciências Biológicas, Bloco a, sala 216-215, 29.075-919, Vitória, ES, Brasil. Tombos: 150792 a 150816 a 157187, dados disponíveis on-line no Splink. O parasitoide foi identificado pelo Prof. Dr. Marcelo Teixeira Tavares.

Adultos de *T. howardi* obtidos da criação estoque do laboratório foram mantidos em tubos de ensaio (15 × 1 cm) tampados com algodão e contendo uma gotícula de mel puro (alimento para os insetos). Para a manutenção da criação do parasitoide, pupas de *T. molitor* (com 24 horas de idade) e de *A. gemmatalis* (com 24 a 72 horas de idade), foram expostas ao parasitismo por 3-4 fêmeas ou por 7-8 fêmeas respectivamente, com 24 horas de idade (protocolo de criação estabelecido no Lecobiol), à 25 ± 1 ºC, umidade relativa de 70 ± 10% e fotofase de 14 horas até a emergência da progênie (VARGAS *et. al.* 2011) (ANEXO 4).

2.3 Desenvolvimento experimental em laboratório

2.3.1 Bioensaio com pré-pupas

Pré-pupas de *A. gemmatalis* com 24 horas de idade, foram expostas individualmente ao parasitismo por fêmeas de *T. howardi* com 24 horas de idade e previamente alimentadas com mel, em tratamentos que corresponderam as seguintes densidades: 1:1, 5:1, 10:1, 15:1, 20:1 e 25:1 fêmeas parasitoides: hospedeiro (ANEXO 9). As pré-pupas foram selecionadas com mesmo padrão corporal e peso médio de 0,244g, para evitar variação na biomassa disponível do hospedeiro e individualizadas em placas de Petri de poliestireno cristal (6 cm de diâmetro x 2 cm de altura), com seu respectivo tratamento. Após 24 horas em contato com as pré-pupas, as fêmeas parasitoides foram retiradas das placas com o auxílio de um pincel e as pré-pupas foram transferidas para tubos de vidro (15 x 1 cm) e mantidos em câmara climatizada tipo BOD a 25 ± 1°C, 14 h de fotofase e 70 ± 10 % umidade relativa até a emergência da progênie de *T. howardi*.

Para constatar a viabilidade do hospedeiro, 25 pré-pupas de *A. gemmatalis* foram individualizadas em placas de petri de poliestireno cristal (6 cm de diâmetro x 2 cm de altura) nas mesmas condições anteriormente citadas, sem a presença dos

parasitoides (testemunha), para determinar o número de adultos de *A. gemmatalis* emergidos e a sua mortalidade natural.

A porcentagem de parasitismo (%P) [(número de pré-pupas de *A. gemmatalis* com emergência de parasitoides + pré-pupas sem emergência de adultos de *A. gemmatalis*/(número total de pré-pupas) × 100]; a porcentagem de emergência (%E) [(número de pré-pupas de *A. gemmatalis* com emergência de adultos dos parasitoides)/(número de pré-pupas parasitadas) × 100]; a duração do ciclo de vida (tempo de desenvolvimento do parasitoide imaturo contado a partir do dia do parasitismo até a emergência do adulto); a progênie total (número de parasitoides emergidos por hospedeiro parasitado); a progênie por fêmea (progênie de fêmeas em função da densidade de fêmeas utilizada em cada tratamento); a razão sexual (número de fêmeas/número total de parasitoides emergidos) e a longevidade média de adultos (machos e fêmeas), foram os parâmetros biológicos avaliados.

Para avaliação da longevidade média de machos e de fêmeas em cada tratamento, foram selecionados ao acaso 15 fêmeas e 10 machos de *T. howardi*, sendo esses parasitoides coletados no dia de sua emergência, individualizados em microtubos (eppendorfs) vedados com algodão e contendo uma gota de mel puro para alimentação, onde permaneceram até a sua morte. O sexo dos parasitoides foi determinado de acordo com o dimorfismo sexual observado nas antenas de *T. howardi* (LA SALLE & POLASZEK 2007; ZHENG *et. al.* 2016) (ANEXO 11 – A e B).

2.3.2 Bioensaio com pupas

As pupas foram selecionadas com peso médio de 0,200g, para evitar variação na biomassa disponível do hospedeiro, e os mesmos procedimentos realizados para a montagem e avaliação das características biológicas do bioensaio com pré-pupas, foram realizados com as pupas de *A. gemmatalis* (ANEXO 10).

Adicionalmente, o tamanho das fêmeas da progênie de pupas foi avaliado para cada tratamento, com base no comprimento da tíbia posterior do parasitoide, para isso selecionando 10 fêmeas de *T. howardi* ao acaso (OLSON & ANDOW 1998; AMERI *et. al.* 2013). O comprimento da tíbia posterior das fêmeas foi considerado a partir da articulação com o fêmur até a junção com o tarso (OLSON & ANDOW, 1998) e foram obtidos com o auxílio de uma câmera (AxioCam ICc5 ZEISS) acoplada à um

microscópio estereoscópico Discovery.V8. Utilizou-se o Software ZEN Lite para fazer as medições morfométricas (ANEXO 11 – B e C).

2.4 Análise de dados

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos (densidade de fêmeas de *T. howardi*), cada tratamento composto por cinco repetições, sendo cada repetição representada por cinco pré-pupas ou cinco pupas de *A. gemmatalis* nas respectivas densidades do parasitoide, totalizando vinte e cinco (unidades experimentais) por tratamento testado em cada bioensaio.

Os dados das características biológicas avaliadas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a 5% de probabilidade, e as médias quando significativas foram submetidas à análise de regressão. A equação escolhida para representar o fenômeno biológico apresentou todos os coeficientes significativos, ajustando-se melhor aos dados, com base no coeficiente de determinação (R^2), na significância dos coeficientes de regressão (βi) e da regressão pelo teste F ($p \leq 0,05$).

Foram adicionados os Intervalos de Confiança da Regressão, ao nível de 95% de probabilidade, utilizando o aplicativo SigmaPlot 10.0. Os intervalos de confiança são usados para indicar a confiabilidade de uma estimativa durante a pesquisa, e sua interpretação indica que há 95% de "chance" de esse intervalo conter estimativas de valores plausíveis para o parâmetro da população.

3. RESULTADOS

3.1 Características biológicas de *T. howardi* em pré-pupas de *A. gemmatalis* em laboratório

A porcentagem de parasitismo de pré-pupas de *A. gemmatalis* por fêmeas de *T. howardi* variou de 80,00 ± 6,32% a 100% para as diferentes densidades avaliadas do parasitoide, respectivamente (P = 0,0002; F = 163,4784; R^2 = 0,9761) (Figura 1). Já a porcentagem de emergência de pré-pupas de *A. gemmatalis* por fêmeas de *T. howardi* variou de 80,40 ± 8,35% a 100% para as diferentes densidades avaliadas do parasitoide, respectivamente (P = 0,0002; F = 163,4784; R^2 = 0,9761) (Figura 2).

A capacidade de uma fêmea de *T. howardi* por pré-pupa de *A. gemmatalis* apresentou taxa de parasitismo e emergência acima de 80%, diferindo das demais densidades avaliadas com 100% para esses parâmetros.

A duração do ciclo de vida do parasitoide (ovo-adulto) decresceu com o aumento da densidade de fêmeas de *T. howardi*, variando de 21,33 ± 0,48 a 16,44 ± 0,12 dias (P = 0,0003; F = 150,9517; R^2 = 0,9742) (Figura 3).

A densidade de fêmeas de *T. howardi* por pré-pupas de *A. gemmatalis* influenciou a progênie total destes parasitoides, com menor descendência de 47,27 ± 4,43 indivíduos na densidade de 1 fêmea:1 pré-pupa, a uma produção máxima de 389,40 ± 4,03 indivíduos na densidade 25 fêmeas:1 pré-pupa do hospedeiro (Figura 4), e verificou-se uma tendência positiva de aumento da progênie total com o aumento da densidade de parasitoides por hospedeiro (P = 0,0002; F = 165,2906; R^2 = 0,9764).

A produção de fêmeas gerada por fêmeas de *T. howardi* (Figura 5) diferiu entre os tratamentos e foi inversamente proporcional ao aumento de densidade de fêmeas do parasitoide por pré-pupa (P = 0,0014; F = 118,0521; R^2 = 0,9875), variando respectivamente de 41,33 ± 2,35 a 12,31 ± 0,33 fêmeas produzidas por fêmea nas densidades de 1 e 25 fêmeas de *T. howardi* por pré-pupa de *A. gemmatalis*.

A razão sexual de *T. howardi* proveniente de pré-pupas de *A. gemmatalis* variou de 0,89 ± 0,02 a 0,79 ± 0,02 (Tabela 1), mas não houve diferenças entre as densidades de 1 a 25 fêmeas por hospedeiro, apresentando uma razão sexual média de 0,85 ± 0,02 em pré-pupas de *A. gemmatalis*.

A longevidade de fêmeas provenientes de pré-pupas de *A. gemmatalis* foi semelhante nas densidades de fêmeas testadas ($p > 0,05$), apresentando sobrevivência média de 8,74 ± 0,85 dias (Tabela 1). Já a longevidade de machos de *T. howardi* apresentou relação direta com o aumento da densidade de fêmeas (P = 0,0268; F = 11,6963; R^2 = 0,7452), variando de 8,60 ± 0,86 dias a 17,40 ± 2,17 dias, para as densidades de 1 e 25 fêmeas de *T. howardi* por pré-pupa de *A. gemmatalis*, respectivamente (Figura 6).

Pode-se observar que a densidade de 25 fêmeas por uma pré-pupa de *A. gemmatalis* resultou em taxas de 100% para parasitismo e emergência, maiores valores de progênie total (389,40 ± 4,03 indivíduos produzidos por pré-pupa) e longevidade de machos significativamente superiores aos demais tratamentos, com curto período de desenvolvimento (17,04 ± 0,04 dias) e proporção de fêmeas em relação aos indivíduos produzidos acima de 0,70.

3.2 Características biológicas de *T. howardi* em pupas de *A. gemmatalis* em laboratório

A densidade de fêmeas de *T. howardi* influenciou a porcentagem de parasitismo significativamente (Figura 7) (P = 0,0001; F = 216,2356; R^2 = 0,9818), com 70,00 ± 5,77 % e 92,00 ± 4,90 % de pupas parasitadas nas densidades de 1 e 5 fêmeas por hospedeiro, respectivamente, e com 100,00% de parasitismo nas demais densidades (Tabela 2).

Fêmeas de *T. howardi* parasitaram todas as pupas de *A. gemmatalis* nas densidades avaliadas, apresentando porcentagem de emergência de 77,25 ± 7,81% na densidade de 1 fêmea de *T. howardi* por pupa, diferindo significativamente dos demais tratamentos (Figura 8) (P = 0,0002; F = 163,4784; R^2 = 0,9761).

Apenas uma fêmea de *T. howardi* foi capaz de apresentar valores acima de 70% de parasitismo e de emergência em pupas de *A. gemmatalis*, sendo o único tratamento que diferiu significativamente dos demais.

A duração do ciclo de vida do parasitoide (ovo-adulto) resultou em valores de 15,96 ± 0,07 dias a 23,58 ± 0,49 dias, para a maior e menor densidade testadas respectivamente, decrescendo significativamente com o aumento da densidade de fêmeas de *T. howardi* por pupa de *A. gemmatalis* (P = <0,0001; F = 263,6208; R^2 = 0,9851) (Figura 9).

A progênie total por pupa de *A. gemmatalis* foi também influenciada significativamente pela densidade de fêmeas *T. howardi*, na qual a produção variou de 41,06 ± 2,51 a 414 ± 3,98 descendentes por pupa respectivamente, com maior resultado para a densidade de 25 fêmeas de *T. howardi* por hospedeiro (P = <0,0001; F = 1145,9418; R^2 = 0,9965) (Figura 10). A mesma tendência observada para o ciclo de vida ocorreu para o número de progênie por fêmeas, que variou de 13,11 ± 0,36 fêmeas produzidas por cada fêmea na densidade 25:1 pupa de *A. gemmatalis*, a 39,89 ± 2,56 fêmeas produzidas por fêmea na densidade de 1:1 pupa de *A. gemmatalis* (P = 0,0072; F = 38,8085; R^2 = 0,9628) (Figura 11).

A razão sexual diferiu também significativamente entre as densidades de *T. howardi*, com maior proporção de fêmeas de 0,97 ± 0,01 para a densidade de 1 fêmea por pupa de *A. gemmatalis* e de 0,79 ± 0,02 para a maior densidade do parasitoide (Figura 12) (P = 0,0002; F = 157,9003; R^2 = 0,9753).

A longevidade de fêmeas proveniente de pupas de *A. gemmatalis* não variou (não se ajustou significativamente à nenhum modelo de regressão) com as densidades de fêmeas testadas ($p > 0,05$), apresentando sobrevivência média de foi de 9,48 ± 0,63 dias (Tabela 2). Todavia, a longevidade de machos de *T. howardi* apresentou relação positiva com o aumento da densidade de fêmeas ($P = 0,0140$; $F = 17,3760$; $R^2 = 0,8129$), variando de 7,80 ± 0,81 dias a 21,20 ± 1,53 dias, respectivamente para as densidades de 1 e 25 fêmeas de *T. howardi* por pupas de 24 horas de *A. gemmatalis* (Figura 13).

O comprimento da tíbia (mm) das fêmeas emergidas de *T. howardi* variou de 0,56 ± 0,02 a 0,44 ± 0,01 mm, com o aumento na densidade desse parasitoide ($P = 0,0059$; $F = 28,4798$; $R^2 = 0,8768$) (Figura 14) (ANEXOS 12, 13 e 14).

Algumas relações de interação foram realizadas para melhor visualização dos resultados, a fim de verificar a existência de diferenças entre a utilização das fases do hospedeiro (pré-pupas e pupas), quando oferecidas as fêmeas de *T. howardi* (Figura 15, 16, 17 e 18). As interações entre a porcentagem de parasitismo, porcentagem de emergência, progênie total e razão sexual estão representadas, e apenas observam-se diferenças significativas ($p > 0,05$) para as densidades de 10 e 25 fêmeas por hospedeiro no parâmetro progênie total (Figura 17).

De forma geral, os valores resultantes para pupas de *A. gemmatalis* na maior densidade testada foram similares aos de pré-pupas, com 100% de parasitismo e emergência, maiores valores de progênie total produzida por pupa (414 ± 3,98 indivíduos), maior longevidade de fêmeas e dos machos em relação aos demais tratamentos, apresentando um ciclo de desenvolvimento mais rápido (15,96 ± 0,07 dias) e razão sexual de aproximadamente 0,80.

4. DISCUSSÃO

A densidade de fêmeas de *T. howardi* por pré-pupa de *A. gemmatalis* afetou positivamente os parâmetros porcentagem de parasitismo, porcentagem de emergência e quantidade de indivíduos emergidos (progênie), viabilidade da progênie e longevidade de machos de *T. howardi* emergidos. De forma semelhante, a densidade de fêmeas influenciou todos os parâmetros avaliados para pupas, não influenciando apenas a sobrevivência de fêmeas de *T. howardi* emergidas de pupas de *A. gemmatalis*.

Devido a elevada taxa de parasitismo e de emergência em pré-pupas (acima de 80%) e pupas (acima de 70%) realizada apenas por uma fêmea de *T. howardi*, constata-se o alto potencial biológico destas fêmeas parasitoides no processo de parasitismo de pré-pupas e pupas, na qual os imaturos de *T. howardi* exploraram eficientemente os recursos nutricionais do hospedeiro. Esses os resultados demonstram que pré-pupas e pupas de *A. gemmatalis* se enquadram perfeitamente como hospedeiros para a multiplicação de *T. howardi*.

As fêmeas parasitoides do parasitoide ao depositarem seus ovos nos corpos de outros insetos, aqui chamados de hospedeiros, desenvolveram estratégias ao longo do seu processo de co-evolução com artrópodes-pragas, para superar as defesas imunológicas e aproveitar ao máximo os recursos nutricionais do mesmo, utilizando, por exemplo, substâncias do ovário para bloquear a defesa, provocar a morte, paralisar ou proteger os ovos contra o sistema imune (KAESLIN *et. al.* 2005). Essas estratégias indicam a relação direta do parasitoide na supressão da defesa celular do hospedeiro, refletindo no desenvolvimento efetivo das formas imaturas da progênie (ANDRADE *et. al.* 2010).

A escolha de um hospedeiro alternativo representa uma das principais fases na qual o inimigo natural irá se desenvolver, tornando-se fundamental tanto para sua capacidade de controle quanto para a manutenção de sua população. Como relatado em diversas pesquisas, a utilização de hospedeiros mais jovens ou recém-formados favorece ótimos resultados de desenvolvimento do *T. howardi*, devido a observação da preferência de fêmeas do parasitoide por pupas recém-formadas e por fases pré-pupais como descrito nos resultados dessa pesquisa (MOORE & KFIR 1995; PRASAD *et. al.* 2007 ; CRUZ *et. al.* 2011; BARBOSA *et. al.* 2015).

Ao contrário do que se relata na literatura, espera-se que maior quantidade de fêmeas sejam requeridas para que consigam superar satisfatoriamente as barreiras imunológicas do hospedeiro, pois densidades menores de fêmeas não seriam suficientes para fornecer um ambiente adequado para o desenvolvimento de sua progênie (PEREIRA *et. al.* 2010a,b; ALTOÉ *et. al.* 2012; HOOD *et. al.* 2012; BARBOSA et al;. 2016). Todavia, os resultados dessa pesquisa surpreendentemente demonstram que a capacidade de 1 única fêmea de *T. howardi* por pré-pupa e pupa de *A. gemmatalis* foi suficiente para parasitar e se desenvolver nesse hospedeiro alternativo.

O parasitismo de 99,20 ± 0,80% e a emergência de 100,00% de apenas três fêmeas parasitoides de *T. howardi* em pupas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794)

(Lepidoptera: Crambidae), demonstram a elevada capacidade biológica desse parasitoide, pois os imaturos de *T. howardi* exploraram eficientemente os recursos nutricionais do hospedeiro (COSTA *et. al.* 2014a). A capacidade de 1 fêmea de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) foi relatado parasitando pupas de *A. gemmatalis* que resultou em um porcentagem de parasitismo de 97,1 ± 1,4 % e uma progênie por pupa de 103,7 ± 10,4 indivíduos, dados esses semelhantes a capacidade de *T. howardi* quando exposto individualmente a pupas de *A. gemmatalis*, tendo em vista que a maior quantidade de indivíduos de *T. diatraeae* por pupa, provavelmente se dá devido a diferença de tamanho entre os parasitoides, pois *T. howardi* tem um maior tamanho corporal (PARON & BERTI-FILHO 2000).

O aumento da densidade de fêmeas de *T. howardi*, independente da fase de pré-pupa e pupa de *A. gemmatalis*, proporcionam incremento nas taxas de parasitismo, emergência e produção total de indivíduos por hospedeiro, permitindo uma maior oviposição e desenvolvimento de imaturos de *T. howardi*, diminuindo a capacidade do hospedeiro de encapsulá-los, além de reduzir as defesas humoral e celular, aumentando a concentração de fluidos injetados durante a oviposição resultando em mudanças fisiológicas nos hemócitos do hospedeiro parasitado (NALINI *et. al.* 2009; ANDRADE *et. al.* 2010). Em outros trabalhos verificou-se uma redução na capacidade defensiva da imunidade de pupas *A. gemmatalis*, com diminuição na taxa de encapsulamento do hospedeiro, suprimindo a sua defesa celular com o aumento das densidades de *T. diatraeae* e *Palmistichus elaeisis* Delvare e LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) (ANDRADE *et. al.* 2010).

As fêmeas parasitoides da família Eulophidae injetam veneno durante a oviposição, e ao reduzir o número de hemócitos circulantes do hospedeiro, proporcionam um ambiente favorável para o desenvolvimento da sua fase imatura, provavelmente devido a imunossupressão do sistema de defesa, impedindo que as larvas do parasitoide morram devido a encapsulação, asfixia ou devido a ativação de substâncias antagonistas ao seu desenvolvimento (UCKAN *et. al.* 2004; NAPPI & CHRISTENSEN 2005; CARTON *et. al.* 2008; ANDRADE *et. al.* 2010).

A reprodução de *T. howardi* diferiu do eulofídeo *P. elaeisis* em pupas de *Thyrinteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae), que resultou em menor emergência de progênie nas densidades de 1 e 3 parasitoides por pupa, provavelmente devido aos mecanismos de defesa e tamanho do hospedeiro avaliado (PEREIRA *et. al.* 2010b; BARBOSA *et. al.* 2016). Maiores densidades de fêmeas parasitoides sob o

mesmo hospedeiro geralmente proporcionam maior sucesso reprodutivo dos endoparasitoides com hábito gregário em comparação aos solitários (VAN ALPHEN & VISSER 1990; MOREAU & ASGARI 2015), como relatado para fêmeas de *T. diatraeae* em pupas de *A. gemmatalis* (OLIVEIRA *et. al.* 2018).

A redução do ciclo de vida de *T. howardi* (ovo a adulto) devido a influência do aumento da densidade de fêmeas por hospedeiro (pré-pupa e pupa), provavelmente ocorreu devido ao superparasitismo de fêmeas, que causou uma maior pressão de seleção devido a competição entre os imaturos de *T. howardi*, como já foi relatado para *P. elaeisis* em diferentes densidades de fêmeas parasitando pupas de *T. arnobia* (BARBOSA *et. al.* 2016) e pupas de *A. gemmatalis* (PASTORI *et. al.* 2012b)., assim como para *T. diatraeae* parasitando pupas de *A. gemmatalis* (OLIVEIRA *et. al.* 2018). Esse padrão também foi observado para eulofídeos se desenvolvendo em outros hospedeiros (PEREIRA *et. al.* 2010a,b; FAVERO *et. al.* 2013; RODRIGUES *et. al.* 2013; VARGAS *et. al.* 2014; COSTA *et. al.* 2014b).

Maiores progênies de endoparasitoides gregários frequentemente consomem mais rapidamente a quantidade de recursos disponíveis no hospedeiro e a maior competição entre os inúmeros imaturos em desenvolvimento, contribuindo assim para a redução do ciclo de desenvolvimento, o que consequentemente resultará em indivíduos de menor tamanho corporal (MACKAUER & SEQUEIRA 1993; HARVEY *et. al.* 2013; HARVEY & MALCICKA 2016). Um período menor de desenvolvimento pode beneficiar os adultos do parasitoide proporcionando um maior número de gerações anuais, e consequentemente uma maior população presente no agroecossistema (CHICHERA *et. al.* 2012).

O aumento da competição pelos recursos alimentares fornecidos pelo hospedeiro ocorre devido ao combate físico dos imaturos, ou também pela supressão fisiológica do mesmo, resultando na redução do período de desenvolvimento do parasitoide (BRODEUR & BOIVIN 2004; PEREIRA *et. al.* 2010b; ANDRADE *et. al.* 2010; PEREIRA *et. al.* 2017). Por isso, a escolha da melhor proporção de fêmeas parasitoides por hospedeiro é um dos fatores que podem influenciar diretamente na qualidade da progênie, pois como relatado anteriormente, essa situação afeta parâmetros biológicos importantes como o tempo de desenvolvimento da progênie (BARBOSA *et. al.* 2008; PASTORI *et. al.* 2012a; CHEN *et. al.* 2017; OLIVEIRA *et. al.* 2018).

Determinadas espécies parasitoides apresentam uma maior taxa de parasitismo com o aumento da densidade de fêmeas, e além desse fato, o período de exposição do

hospedeiro às fêmeas é crucial nesse processo de aceitação do hospedeiro, a fim de que a fêmea parasitoide atinja sua capacidade máxima e expresse todo seu potencial biológico reprodutivo (CHEN *et. al.* 2018). Baseado nos resultados desta pesquisa, destacamos que 24 horas de exposição do hospedeiro foi mais do que suficiente para obtenção de resultados ótimos da capacidade de parasitismo *T. howardi* em pré-pupa ou pupa de *A. gemmatalis*, também já relatado para os eulofídeos *T. howardi* e *T. diatraeae* parasitando pupas de *Helicoverpa armigera* (Hubner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae) (OLIVEIRA *et. al.* 2016).

A capacidade de 1 fêmea de *T. howardi* por pré-pupa e pupa de *A. gemmatalis* foi suficiente para combater os mecanismos de defesas desse hospedeiro, devido aos seus parâmetros biológicos avaliados, com desenvolvimento de imaturos nesse hospedeiro alternativo. A maior quantidade de indivíduos de *T. howardi* produzidos por hospedeiro (pré-pupa ou pupa) de *A. gemmatalis*, a partir da densidade de 5 fêmeas, demonstra que as taxas de parasitismo e o desenvolvimento de seus descendentes são maximizadas, e dessa forma há garantia de um maior êxito na produção e multiplicação desse inimigo natural. Ficou evidente nesta que com o aumento da densidade de fêmeas, há um incremento direto na produção de adultos de *T. howardi* gerados por pré-pupa e por pupa de *A. gemmatalis*.

Embora tenha-se observado o aumento da progênie em uma tendência crescente, concomitantemente observou-se a diminuição da razão sexual de fêmeas, ou seja, o número de machos cresceu na progênie total, além do que influencia diretamente na menor quantidade de fêmeas produzidas por fêmeas (progênie/fêmeas) e na diminuição do ciclo de vida. Em termos práticos, a utilização de 25 fêmeas de *T. howardi* por hospedeiro resulta em um investimento muito maior de tempo, e consequentemente, exige uma quantidade enorme de fêmeas parasitoides para dar início a multiplicação desse inimigo natural em média e grande escala de produção.

Quando comparamos a produção de indivíduos total para pré-pupa e pupa de *A. gemmatalis* a uma exposição de 25 fêmeas de *T. howardi*, observa-se que há diferença estatística entre os valores obtidos. Independente dessa diferença destaca-se a maior produção de indivíduos nos dois hospedeiros avaliados de *A. gemmatalis* para essa densidade, na qual ambos estão aptos ao desenvolvimento da progênie e multiplicação massal de *T. howardi*.

A progênie máxima de *T. howardi* que emergiu por pupa de *A. gemmatalis* foi de 414 ± 3,98 indivíduos com uma produção de 13,11 ± 0,36 fêmeas produzidas por

fêmeas e com razão sexual de 0,79 ± 0,02. Comparativamente com outros hospedeiros, a progênie produzida por fêmeas de *T. howardi* multiplicadas em pupas de *H. armigera* foi de 669,3 ± 33,47 indivíduos, com o peso das pupas variando de 0,328 a 0,418 g. peso esse maior que o valor médio encontrado por pupas de *A. gemmatalis* (0,220 g) (OLIVEIRA *et. al.* 2016).

Pode-se inferir que o tamanho e o peso do hospedeiro têm influência direta no desenvolvimento de fêmeas parasitoides bem como na quantidade e na qualidade da progênie produzida por hospedeiro (OLIVEIRA *et. al.* 2016). Pupas maiores como a de *Erinnyis ello* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Sphingidae), com peso variando de 3.397 a 3.807 g, exposta a uma densidade de 10 fêmeas por hospedeiro, permitiu o desenvolvimento de 466±0.44 indivíduos de *T. howardi* (BARBOSA *et. al.* 2015).

Os valores obtidos nesse estudo foram semelhantes aos apresentados por Costa *et. al.* (2014a), na qual avaliaram os aspectos biológicos de *T. howardi* em pupas *D. saccharalis*, com peso variando 0,190 a 0,220 g, e progênie de 190,74 ± 9,33 indivíduos produzidos em pupas de 24 horas, em uma densidade de 3 fêmeas: 1 hospedeiro.

Em contrapartida, a progênie máxima produzida em pupas de *A. gemmatalis* foi superior (414,0 ± 3,98 indivíduos) que a progênie máxima produzida em pupas de 72 h de *D. saccharalis*, com até 196,88 ± 8,49 indivíduos (COSTA *et. al.* 2014b). Importante ressaltar que a densidade testada por pupa de *D. saccharalis* foi de três fêmeas parasitoides por hospedeiro, enquanto que nesse estudo a progênie máxima em pupas de *A. gemmatalis* foi gerada com a densidade de 25 fêmeas por hospedeiro. Esse fato se dá devido a tendência crescente observada no parâmetro progênie total e a relação direta de aumento com a densidade de fêmeas.

Tetrastichus howardi é um parasitoide cosmopolita e gregário, e o desenvolvimento de sua progênie depende dos recursos nutricionais encontrados em um único hospedeiro (VARGAS *et. al.* 2011; HARVEY *et. al.* 2013; COSTA *et. al.* 2014a,b). O hospedeiro representa condições para o desenvolvimento da progênie e as necessidades nutricionais dos parasitoides são geralmente específicas para cada inimigo natural, variando de acordo com a espécie hospedeira, o seu tamanho corporal ou sua fase de desenvolvimento *(*KHAFAGI & HEGAZI 2008; CÔNSOLI & VINSON 2009; HARVEY *et. al.* 2013; HARVEY & MALCICKA 2016). Portanto, os agentes de controle biológico são extremamente eficientes em explorar e utilizar os recursos limitados do hospedeiro, para sua reprodução e sobrevivência (BRODEUR & BOIVIN 2004; PENNACCHIO & STRAND 2006; HARVEY & MALCICKA 2016).

Muitos parasitoides da família Eulophidae apresentam a capacidade de parasitar hospedeiros de diferentes tamanhos e fases de desenvolvimento, famílias e ordens. Em razão da espécie hospedeira afetar o desenvolvimento dos parasitoides, observamos resultados diversos acerca dos seus parâmetros biológicos (BAITHA *et. al.* 2004; LA SALLE & POLASZEK 2007; PRASAD *et. al.* 2007; SILVA-TORRES *et. al.* 2010; PASTORI *et. al.* 2012a,b). A densidade de fêmeas parasitoides é relatada influenciando a produção de progênie total de *P. elaeisis* por pupa de *T. arnobia*, com um mínimo de 30 e um máximo de 724 descendentes de *P. elaeisis* produzidos nas densidades de 1 e 15 parasitoides por pupa hospedeira, respectivamente (BARBOSA *et. al.* 2016). De forma semelhante, dez fêmeas de *T. diatraeae* por pupa de *A. gemmatalis* são indicadas para ser usadas para multiplicação massal desse parasitoide, como a melhor densidade escolhida, produzindo em média 300 indivíduos por pupa (OLIVEIRA *et. al.* 2018).

A razão sexual da progênie emergida para ambos os hospedeiros avaliados, apresentou valores aproximadamente de 0,80, mesmo quando havia uma maior densidade de fêmeas por pré-pupa ou por pupa de *A. gemmatalis* (densidade de 25 fêmeas). Uma maior predominância de fêmeas de *T. howardi* (razão sexual) por hospedeiro de *A. gemmatalis*, demonstra a relevância para seu uso como agentes de controle biológico, pois as fêmeas parasitoides são os reais agentes responsáveis pelo parasitismo do hospedeiro, proporcionando o aumento da criação massal e seu desempenho em condições de campo (RODRIGUES *et. al.* 2013; COSTA *et. al.* 2014b; KUMAR *et. al.* 2016a).

O aumento da densidade de fêmeas de *T. diatraeae* em pupas *A. gemmatalis* afetou a razão sexual da progênie, apresentando redução dos valores desse parâmetro, semelhante aos resultados encontrados nessa pesquisa (OLIVEIRA *et. al.* 2018). Provavelmente, isso ocorre devido ao alto grau de competição exercido pelos imaturos no interior do mesmo hospedeiro, pois há uma maior pressão de seleção pelas fêmeas parasitoides, resultando no aumento proporcional da progênie total (machos e fêmeas) e uma consequente redução na produção de fêmeas (progênie de fêmeas produzidas por fêmeas) (SOARES *et. al.* 2009).

Os valores de razão sexual variam devido as diferenças no valor nutricional, barreiras fisiológicas, capacidade de defesa e disponibilidade dos diferentes hospedeiros (ZACHÉ *et. al.* 2012; PASTORI *et. al.* 2012a,b). Uma proporção de fêmeas acima de 0,80 demonstra o potencial do parasitoide *T. howardi* para o manejo de *A. gemmatalis*,

como relatado para este parasitoide sendo multiplicado em pupas de *Chilo auricilius* Dudgeon, 1905 (Lepidoptera: Crambidae), e *D. saccharalis*, e *H. armigera* (PEREIRA *et. al.* 2015; PIÑEYRO *et. al.* 2016; KUMAR *et. al.* 2016; HARVEY & MALCICKA 2016; OLIVEIRA *et. al.* 2016) e fêmeas de *P. elaeisis* e *T. diatraeae* parasitando pupas de *A. gemmatalis* (PASTORI *et. al.* 2012b; OLIVEIRA *et. al.* 2018).

Essas variações na proporção entre os sexos do parasitoide podem ser benéficas ou prejudiciais em programas de controle biológico (BARBOSA *et. al.* 2016), e por isso maiores valores de razão sexual devem ser selecionados (PANDEY & TRIPATHI 2008). Devido ao aumento da pressão de seleção em razão da presença de competidores por hospedeiro, as fêmeas parasitoides podem alterar a proporção sexual da progênie, investindo na produção de um número suficiente de machos na progênie para fertilizar as fêmeas geradas, estratégia conhecida como "competição local de parceiros" (HAMILTON 1967; CARNEIRO *et. al.* 2009).

Altos valores de razão sexual de *T. howardi* demonstram a importância deste parâmetro para os experimentos de laboratório e os estudos de multiplicação massal de parasitoides, anteriormente à seleção de indivíduos para liberação no campo, pois as fêmeas parasitoides são as verdadeiras responsáveis pela manutenção da geração subsequente (HEIMPEL & LUNDGREN 2000; AMALIN *et. al.* 2005; PASTORI *et. al.* 2012b; PEREIRA *et. al.* 2013; COSTA *et. al.* 2014b).

A medida que há o aumento da densidade de fêmeas, a progênie resultante de pupas de *A. gemmatalis* apresenta um menor tamanho corporal, como foi demonstrado pelo comprimento médio da tíbia de fêmeas de *T. howardi*. Todavia é possível obter progênies superiores a 100 parasitoides por pré-pupa e pupa de *A. gemmatalis* (como observado a partir da densidade de 5 fêmeas parasitoides por hospedeiro), com desempenho reprodutivo de alta qualidade, fato este corroborado com outros estudos com diferentes espécies (FIDGEN *et. al.* 2000; RIDDICK 2008; PEREIRA *et. al.* 2010a, b; CHICHERA *et. al.* 2012; PASTORI *et. al.* 2012b; BARBOSA *et. al.* 2016).

Os resultados de indivíduos gerados com menor tamanho corporal, provavelmente se deve a competição dos imaturos por recurso e espaço limitado no interior de pupas de *A. gemmatalis*. Outro fato interessante é de que o número de ovos nos ovários de *T. howardi* apresenta correlação positiva significativa com o comprimento corporal e a largura da cabeça da fêmea adulta parasitoide (ZHONG *et. al.* 2016).

Indicadores de qualidade e aptidão do parasitoide, como fecundidade, preferência de acasalamento, longevidade, porcentagem de emergência da progênie e razão sexual tem correlação positiva com o tamanho do corpo das fêmeas parasitoides (medida pelo comprimento médio da tíbia), indicando a eficiência desses agentes de controle biológico (SAGARRA *et. al.* 2001; PEREIRA *et. al.* 2010a,b; PASTORI *et. al.* 2012b).

Entre outras espécies de parasitoides, foi comprovada a relação entre o tamanho do hospedeiro, o tamanho da progênie gerada e o tamanho do corpo do parasitoide (ASGARI & RIVERS 2011; HARVEY *et. al.* 2013; MAYHEW 2016; HARVEY & MALCICKA 2016), fato importante ao escolher uma densidade ótima de fêmeas parasitoides que resulte em uma progênie com qualidade e eficiência para parasitar novos hospedeiros.

Apesar de não haver diferença entre as médias de longevidade de fêmeas de *T. howardi* em relação a densidade de fêmeas parasitoides estudadas, o período médio de sobrevivência das fêmeas correspondeu a 8,74 ± 0,85 dias para fêmeas emergidas de pré-pupas, e 9,48 ± 0,63 dias para fêmeas emergidas em pupas. Importante salientar que o comportamento dessa espécie garante o sucesso reprodutivo da mesma, devido a emergência dos machos se dar primeiro que as fêmeas de *T. howardi*, realizando assim a cópula nas primeiras horas após sua emergência (GONZALEZ *et. al.* 2003).

A longevidade de machos e fêmeas pode ser influenciada pela densidade de hospedeiros (GONZÁLEZ *et. al.* 2003) como corroborado nessa pesquisa, pela espécie hospedeira escolhida pelo parasitoide em particular (KFIR *et. al.* 1993), pela atividade de acasalamento (KARINDAH *et. al.* 2005), pela temperatura ambiente (FAVERO *et. al.* 2015) dentre outros fatores relatados na literatura. A longevidade dos adultos (machos e fêmeas) de *P. elaeisis* e *T. diatraeae* quando superior a 10 dias foi suficiente para que, quando liberados, encontrassem seus hospedeiros e realizassem o parasitismo (CHICHERA *et. al.* 2012). Já a sobrevivência média de fêmeas de *T. howardi* foi de 13,00 ± 0,53 dias e a longevidade de machos em médias de 14 dias em pupas de *D. saccharalis* de 24 horas de idade (COSTA *et. al.* 2014a), e a longevidade de *T. howardi* de 15,00 ± 0.57 dias para fêmeas e 12 ± 0.93 dias para machos emergidos de pupas de *E. ello* em uma densidade de 10 fêmeas por hospedeiro (BARBOSA *et. al.* 2015).

Todavia, há casos em que a longevidade não é afetada com o aumento da densidade de fêmeas parasitoides, assim como foi observado para fêmeas nessa pesquisa, porém as densidades de fêmeas testadas sob cada hospedeiro garantem o

tempo de sobrevivência dos adultos, proporcionando às fêmeas o tempo de vida necessário para a busca de seus hospedeiros, seja em condições de laboratório ou de campo (CARNEIRO *et. al.* 2009). Esse fato ocorreu para a longevidade de machos e fêmeas quando diferentes densidades de *T. diatraeae* foram avaliadas por pupa de *D. saccharalis* (VARGAS *et. al.* 2014), e para machos e fêmeas de *T. diatraeae* em pupas de *A. gemmatalis* (OLIVEIRA *et. al.* 2018).

O maior o tempo de vida da fase adulta de fêmeas parasitoides, em criações de agentes de controle biológico em grande escala é ressaltado como um dos parâmetros essenciais de controle de qualidade dos insetos (QUEIROZ *et. al.* 2017). Essa maior sobrevivência garantirá a localização do hospedeiro no habitat, avaliando e elegendo aqueles que apresentarem melhor qualidade para o desenvolvimento da prole, interferindo diretamente no desempenho da progênie (ROYER *et. al.* 1999; PEREIRA *et. al.* 2010a,b), pois o parasitismo por si só é suficiente para impedir a continuação do ciclo do artrópode-praga.

A utilização de parasitoides em programas de controle biológico depende do seu desenvolvimento e reprodução em hospedeiros preferenciais ou alternativos, que garantam adequada condição nutricional e possuam baixo custo de produção, quando multiplicados em criações de média a larga escala (PARRA, CÔNSOLI, 2009; ZANUNCIO *et. al.* 2008; PEREIRA *et. al.* 2010a; FAVERO *et. al.* 2013; PEREIRA *et. al.* 2013).

O fato de *T. howardi* conseguir parasitar e se desenvolver com êxito em diferentes fases do mesmo hospedeiro demonstra a eficiência desse agente de controle biológico, pela disponibilidade a mais de alternativas para multiplicação desse parasitoide, permitindo ampliar a faixa de hospedeiros e maximizar a produção de progênie em laboratório para futuros experimentos de campo. Em adição, propiciar a redução dos custos de produção, antecipando o processo de parasitismo para a fase pré-pupal, de modo que haja um ganho de tempo nas criações massais de parasitoides em laboratório e permitir a produção de uma progênie com qualidade.

Parasitar e se desenvolver em diferentes fases do mesmo hospedeiro garante a sobrevivência desse inimigo natural em condições de campo, pois as fêmeas parasitoides buscam seu hospedeiro imediatamente após sua emergência e podem adequar e ampliar esse processo de forma exitosa, lembrando que trata-se de um endoparasitoide gregário de larvas e pupas de diferentes lepidópteros-praga. Além do mais, um alto desempenho reprodutivo de fêmeas parasitoides, demonstra a viabilidade

do hospedeiro alternativo utilizado para multiplicação em laboratório, com perspectivas de melhorar e facilitar o controle biológico aplicado (FAVERO *et. al.* 2013; FAVERO *et. al.* 2015; PIÑEYRO *et. al.* 2016).

As comparações entre os principais parâmetros biológicos de *T. howardi* multiplicados em pré-pupas e pupas, apenas reafirmam que estas duas fases de desenvolvimento do hospedeiro são igualmente adequadas para o desenvolvimento e multiplicação de fêmeas de *T. howardi*. Vale salientar que a utilização de pré-pupas de *A. gemmatalis* permite antecipar o processo de multiplicação desse agente de controle biológico em produção em grande escala, resultando em investimento de tempo, já que os resultados são tão satisfatórios quanto com a utilização de pupas de *A. gemmatalis*.

Os resultados indicam a importância de estudos em criações massais de inimigos naturais, buscando hospedeiros alternativos viáveis para o desenvolvimento dos mesmos, maximizando as qualidades biológicas dos inimigos naturais (GLAESER *et. al.* 2014). Dessa forma, novos estudos devem ser realizados para o avanço da ciência e do controle biológico de pragas, com pesquisas voltadas para a liberação/dispersão desse parasitoide, com outros ensaios focando sua eficiência em campo.

O parasitismo e o desenvolvimento de *T. howardi*, independente da densidade de fêmeas utilizadas sob o hospedeiro, demonstram que esse inimigo natural tem potencial para se multiplicar com qualidade em pré-pupas ou pupas de *A. gemmatalis*, proporcionando uma criação massal bem sucedida deste parasitoide, despertando novas perspectivas para o desenvolvimento de pesquisas futuras.

5. CONCLUSÃO

Tetrastichus howardi parasitou com êxito pré-pupas e pupas de *A. gemmatalis* em todas as densidades 1:1, 5:1, 10:1, 15:1, 20:1 e 25:1 de fêmeas parasitoides testadas por hospedeiro, demonstrando a adequabilidade destas fases do hospedeiro para multiplicação e produção massal do parasitoide.

De maneira geral, 5 a 10 fêmeas de *T. howardi* por pré-pupa ou por pupa de *A. gemmatalis* é a faixa de densidade de fêmeas indicada para a multiplicação desse inimigo natural, proporcionando valores considerados ótimos para os parâmetros biológicos.

REFERÊNCIAS

ALTOÉ T.S., PRATISSOLI D., CARVALHO J.R., SANTOS JUNIOR H.J.G., PAES J.P.P., BUENO R.C.O.F., BUENO A.F. 2012. *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitism of *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs under different temperatures. Ann. Entomol. Soc. Am. **105**: 82–89.

AMERI M., RASEKH A., MICHAUD JP., ALLAHYARI H. 2013. Morphometric indicators for quality assessment in the aphid parasitoid, *Lysiphlebus fabarum* (Braconidae: Aphidiinae). Eur. J. Entomol. **110**: 519-525.

ANDRADE G.S., SERRAO J.E., ZANUNCIO J.C., ZANUNCIO T.V., LEITE G.L.D., POLANCZYK R.A. 2010. Immunity of an alternative host can be overcome by higher densities of its parasitoids *Palmistichus elaeisis* and *Trichospilus diatraeae*. Plos One **5**: 1-7. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013231

BAITHA A., JALALI S.K., RABINDRA R.J., VENKATESAN T., RAO N.S. 2004. Parasitizing efficiency of the pupal parasitoid, *Tetrastichus howardi* (Olli) (Hymenoptera: Eulophidae) on *Chilo partellus* (Swinhoe) at different exposure periods. J. Biol. Control. **18**: 65-68.

BAITHA A., MAURYA B.L. 2012. Reproductive biology of *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae): A gregarious pupal parasitoid. Indian J. Sugarc. Technol. **27**: 59-61.

BARBOSA L.S., COURI M.S., AGUIAR-COELHO V.M. 2008. Development of *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae) in pupae of *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775) (Diptera: Calliphoridae), using different densities of parasitoid. Biota Neotrop. **8**: 49-54. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/S1676-06032008000100005

BARBOSA R.H., KASSAB S.O., PEREIRA F.F., ROSSONI C., COSTA D.P, BERNDT M.A. 2015. Parasitism and biological aspects of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Erinnyis ello* (Lepidoptera: Sphingidae) pupae. Cienc. Rural, **45**: 185-188.

BARBOSA R.H., ZANUNCIO J.C., PEREIRA F.F., KASSAB S.O., ROSSONI C. 2016. Foraging activity of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) at various densities on pupae of the eucalyptus defoliator *Thyrinteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae). Fla. Entomol. **99**: 121-127. DOI: https://doi.org/10.1653/024.099.0417

BORTOLOTTO O.C., FERNANDES A.P., BUENO R.C.O.F., BUENO A.F., KRUZ Y.K.S., QUEIROZ A.P., SANZOVO A., FERREIRA R.B. 2015. O uso do manejo integrado de pestes de soja no Brasil: uma revisão. Agron. Sci. Biotechnol. **1**: 25-32.

BRODEUR J., BOIVIN G. 2004. Functional ecology of immature parasitoids. Annu. Rev. Entomol. **49**: 27–49.

CARNEIRO T.R., FERNANDES A.O., CRUZ I. 2009. 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). Rev. Bras. Entomol. **53**: 482-486. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/S0085-56262009000300026

CARTON Y., POIRIÉ M., NAPPI A.J. 2008. Insect immune resistance to parasitoids. Insect Sci. **15**: 67–87.

CHEN X.L., TRIANA M., STANSLY P.A. 2017. Optimizing production of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of the citrus greening disease vector *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psylloidea). Biol. Control. **105**: 13-18. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2016.10.010

CHEN X.L., WONG S.W.K., STANSLY P.A. 2018. Oviposition behaviour of *Tamarixia radiata*: effects of host density and exposure time. Ecol. Entomol. **43**: 55-59. DOI: 10.1111/een.12470.

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

CÔNSOLI F.L., VINSON S.B. 2009. Parasitoides (Hymenoptera). (In: Bioecologia e nutrição de insetos. A.R. PANIZZI, J.R.P. PARRA ed Embrapa Informação Tecnológica, Brasília): 837-874.

COSTA D.P., PEREIRA F.F., KASSAB S.O., ROSSONI C., FAVERO K., BARBOSA R.H. 2014a. Reprodução de *Tetrastichus howardi* em pupas de *Diatraea saccharalis* de diferentes idades. Rev. Ciênc. Agrár. **57**: 67-71. DOI: http://dx.doi.org/10.4322/rca.2013.067

COSTA D.P., PEREIRA F.F., KASSAB S.O., ROSSONI C., PASTORI P.L., ZANUNCIO J.C., 2014b. *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) in different densities and periods of parasitism on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) caterpillars. Ann. Entomol. Soc. Am. **107**: 961-966. DOI: http://dx.doi.org/10.1603/AN14014

CRUZ I., REDOAN A.C., SILVA R.B.D., FIGUEIREDO M.D.L.C., PENTEADO-DIAS A.M. 2011. New record of *Tetrastichus howardi* (Olliff) as a parasitoid of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) on maize. Sci. Agric. **68**: 252-254. DOI: 10.1590/S0103-90162011000200017.

FAVERO K., PEREIRA F.F., KASSAB S.O., OLIVEIRA H.N., COSTA D.P., ZANUNCIO J.C. 2013. Biological characteristics of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) are influenced by the number of females exposed per pupa of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). Fla. Entomol. **96**: 583-589. DOI: https://doi.org/10.1653/024.096.0224

FAVERO K., PEREIRA F.F., TORRES J.B., DE OLIVEIRA H.N., KASSAB S.O., ZANUNCIO, J.C. 2015. Reproduction of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) in *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) pupae at different temperatures. Fla. Entomol. **98**: 865-869. DOI: https://doi.org/10.1653/024.098.0308

FERNANDES W.C., RODRIGUES A., FACA E.C., PEREIRA H.C., SILVEIRA M.C.A., ORTIZ S.Z., PASTORI P.L., PEREIRA F.F. 2018. Desempenho biológico de *Tetrastichus howardi* (Hym.: Eulophidae) na lagarta-da-soja em laboratório e semi-campo. XXVII Congresso Brasileiro de Entomologia e X Congresso Latino-Americano de Entomologia. File Online

https://www.cbe2018.com.br/images/cbe2018/docs/anais/anais-cbe-2018-v2.pdf (Accessed 10 Outubro 2018).

FRANCISCO L.M.L. 2016. Parasitismo e desenvolvimento de *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: eulophidae) na lagarta-da-soja *Anticarsia gemmatalis* (Hubner, 1818) (Lepidoptera: Erebidae). Unpublished. Trabalho de conclusão de curso, Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, UFGD, Dourados. Pp. 32.

GLAESER D.F., PEREIRA F.F., VARGAS E.L., CALADO V.R.F., FAVERO K. 2014. Reprodução de *Trichospilus diatraeae* em *Diatraea saccharalis* após três gerações em *Tenebrio molitor*. Pesq. Agropec. Tropic. **44**: 213-218. DOI: https://dx.doi.org/10.1590/S1983-40632014000200013

GONZÁLEZ J.F.A., OCA F.N.M., RAVELO H.G. 2003; Estudios bioecológicos de *Tetrastichus howardi* Olliff. (Hymenoptera: Eulophidae), parásito pupal de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) en Cuba. (Primera parte). Centro Agricola. **30**: 37-41.

GREENE G.L., LEPPLA N.C., DICKERSON W.A. 1976. Velvetbean caterpillar: a rearing produce and artificial medium. J. Econ. Entomol. **69**: 487-488. DOI: http://dx.doi: 10.1093/jee/69.4.487

HAMILTON W.D. 1967. Extraordinary sex ratios. Science. **156**: 477-488. DOI: http://dx.doi: 10.1126/science.156.3774.477

HARVEY J.A., MALCICKA M. 2016. Nutritional integration between insect hosts and koinobiont parasitoids in an evolutionary framework. Entomol. Exp. Appl. **159**: 181-188. DOI: 10.1111/eea.12426

HARVEY J.A., POELMAN E.H., TANAKA, T. 2013. Intrinsic Inter- and Intraspecific Competition in Parasitoid Wasps. Annu. Rev. Entomol. **58**: 333-351. DOI: https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153622

HERNÁNDEZ JV., OSBORN F., HERRERA B., LIENDO-BARANDIARAN C.V., PEROZO J., VELÁSQUEZ D. 2009. Parasitoides Larva-Pupa de *Hylesia metabus*

Cramer (Lepidoptera: Saturniidae) en la Región Nororiental de Venezuela: un Caso de Control Biológico Natural. Neotrop. Entomol. **38**: 243-250.

HOFFMANN-CAMPO C.B., OLIVEIRA E.B., MOSCARDI F. 1985. Criação massal da lagarta da soja (*Anticarsia gemmatalis*). EMBRAPA-Centro Nacional de Pesquisa da Soja, Londrina. Documentos 10, pp. 21.

HOOD G., EGAN S., FEDER J. 2012. Interspecific competition and speciation in endoparasitoids. Evol. Biol. **39**: 219–230.

KAESLIN M.R., PFISTER-WILHELM R., MOLINA D., LANZEREIN B. 2005. Changes in the haemolymph proteome of *Spodoptera littoralis* induced by the parasitoid *Chelonus inanitus* or its polydnavirus and fysiological implications. J. Insect Physiol. **51**: 975-988. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.jinsphys.2005.04.012.

KFIR R., GOUWS J., MOORE S. 1993. D. Biology of *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae): a facultative hyperparasitoid of stem borers. Biocontrol Sci. Techn. **3**: 149-159.

KHAFAGI W.E., HEGAZI E.M. 2008. Does superparasitism improve host suitability for parasitoid development? A case study in the *Microplitis rufiventris-Spodoptera littoralis* system. Biol. Control. **53**: 427–438. DOI:10.1007/s10526-007-9078-0

KUMAR A., BAITHA A., BARELIYA P.K. 2016. Some biological aspects of pupal parasitoid, *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) on *Chilo auricilius* (Dudgeon) pupae. Curr. Biot. **10**:170-174.

LA SALLE J., POLASZEK, A. 2007. Afrotropical species of the *Tetrastichus howardi* species group (Hymenoptera: Eulophidae). African Entomol. **15**: 45-56. DOI: 10.4001/1021-3589-15.1.45

LEE J.H., JOHNSON S.J. 1990. Microhabitat distribution of velvetbean caterpillar (Lepidoptera: Noctuidae) pupae in soybean fields in Louisiana. Environm. Entomol. **19**: 740-745.

MACKAUER M., SEQUEIRA R. 1993. Patterns of development in insect parasites. (In: Parasites and Pathogens of Insects. N.E. BECKAGE, S.N. THOMPSON & B.A. FEDERICI. ed Academic Press, New York): 1–23.

MILWARD-DE-AZEVEDO E.M.V., SERAFIN I., PIRANDA E.M., GULIAS-GOMES, C.C. 2004. Desempenho reprodutivo de *Nasonia vitripennis* Walker (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas crioconservadas de *Chrysomia megacephala* Fabricius (Diptera: Calliphoridae): avaliação preliminar. Ciênc. Rural. **34**: 207-211.

MOORE S.D., KFIR R. 1995. Aspects of the biology of the parasitoid, *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae). J. African Zool. **109**: 455-466. File online http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=BE9600593 (Accessed 23 February 2013).

MOREAU S., ASGARI S. 2015. Venom Proteins from Parasitoid Wasps and Their Biological Functions. Toxins. **7**: 2385–2412. DOI: 10.3390/toxins7072385

NALINI M., IBRAHIM A.M.A., HWANG I., KIM Y. 2009. Altered actin polymerization of *Plutella xylostella* (L.) in response to ovarian calyx components of an endoparasitoid *Cotesia plutellae* (Kurdjumov). Physiol. Entomol. **34**: 110–118.

NAPPI A.J., CHRISTENSEN B.M. 2005. Melanogenisis and associated cytotoxic reactions, applications to insect innate immunity. Insect Biochem. Mol. Biol. **35**: 443-459.

OLIVEIRA F.A.L.D., SILVA R.O., OLIVEIRA N.R.X.D., ANDRADE G.S., PEREIRA F.F., ZANUNCIO J.C., COUTINHO C.R., PASTORI P.L. 2018. Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) with different densities and parasitism periods in *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) Pupae. Folia Biol. (Kraków) **66**: 103-110. DOI: https://doi.org/10.3409/fb_66-3.11

OLIVEIRA H.N., SIMONATO J., GLAESER D.F., PEREIRA F.F. 2016. Parasitismo of *Helicoverpa armigera* pupae (Lepidoptera: Noctuidae) by *Tetrastichus howardi* and *Trichospinus diatraeae* (Hymenopetra: Eulophidae). Semin. Ciên. Agrár. **37**: 111-115. DOI: http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n1p111

OLSON D.M., ANDOW D.A. 1998. Larval crowding and adult nutrition effects on longevity and fecundity of female *Trichogramma nubilale* Ertle & Davis (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Environ. Entomol. **27**: 508-514.

PANDEY A.K., TRIPATHI C.O.M. 2008. Effect of temperature on the development, fecundity, progeny sex ratio and life-table of *Campoletis chlorideae*, an endolarval parasitoid of the pod borer, *Helicoverpa armigera*. Bio. Control. **53**: 461-471. DOI: http://dx.doi: 10.1007/s10526-007-9083-3

PANIZZI A.R., OLIVEIRA L.J., SILVA, J.J. 2004. Survivorship, larval development and pupal weight of *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) feeding on potential leguminous host plants. Neotrop. Entomol. **33**: 563-567. DOI: 10.1590/S1519- 566X2004000500004

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

PARRA J.R.P. 2014. Biological Control in Brazil: An overview. Sci. Agric. 7**1**: 345-355.

PARRA J.R.P., CÔNSOLI F.L. 2009. Criação massal e controle de qualidade de parasitoides de ovos. (In: Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade. V.H.P. BUENO ed UFLA, Lavras): 169-197.

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

PASTORI P.L., PEREIRA F.F., ZANUNCIO J.C., OLIVEIRA H.N., CALADO V.F.R., SILVA R.O. 2012b. Densidade de fêmeas de *Palmistichus elaeisis* Delvare & Lasalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) para sua reprodução em pupas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae). Arq. Inst. Biol. **79**: 525-532. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/S1808-16572012000400009

PENNACCHIO F., STRAND M.R. 2006. Evolution of developmental strategies in parasitic Hymenoptera. Annu. Rev. Entomol. **51**: 233-258.

PEREIRA F.F., KASSAB S.O., CALADO, V.R.F., VARGAS, E.L., OLIVEIRA H.N., ZANUNCIO J.C. 2015. Parasitism and emergence of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) larvae, pupae and adults. Fla. Entomol. **98**: 377-380.

PEREIRA F.F., ZANUNCIO J.C., KASSAB S.O., PASTORI P.L., BARBOSA R.H., ROSSONI C. 2013. Biological characteristics of *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) on refrigerated pupae of *Anticarsia gemmatalis* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae). Chilean J. Agric. Res. **73**: 117-121. DOI: https://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392013000200005

PEREIRA F.F., ZANUNCIO J.C., PASTORI P.L., PEDROSA A.R., OLIVEIRA H.N. 2010a. Parasitismo de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) em hospedeiro alternativo sobre plantas de eucalipto em semi-campo. Rev. Ciênc. Agron. **41**:715-720. DOI: 10.1590/S1806-66902010000400028.

PEREIRA F.F., ZANUNCIO J.C., SERRÃO J.E., PASTORI P.L., RAMALHO F.S. 2009. Reproductive performance of *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) with previously refrigerated pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). Braz. J. Biol. **69**: 631-637. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/S1519-69842009000400014

PEREIRA F.F., ZANUNCIO J.C., SERRÃO J.E., ZANUNCIO T.V., PRATISSOLI D., PASTORI P.L. 2010b. The density of females of *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). An. Acad. Bras. Cienc. **82**: 323-331. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/S0001-37652010000200008

PEREIRA K.D., GUEDES N.M.P., SERRAO J.E., ZANUNCIO J.C., GUEDES R.N.C. 2017. Superparasitism, immune response and optimum progeny yield in the gregarious parasitoid *Palmistichus elaeisis*. Pest. Manag. Sci. **73**: 1101-1109. DOI: 10.1002/ps.4534

PIÑEYRO N.G., PEREIRA F.F., BORGES F.L.G., ROSSONI C., SILVA A.S., KASSAB S.O. 2016. ¿Multiplicar *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) en la oruga de la seda afecta su biología?. Acta biol. Colomb. **21**:189-193. DOI: http://dx.doi.org/10.15446/abc.v21n1.47999.

PRASAD K.S., ARUNA A.S., KUMAR V., KARIAPPA B.K. 2007, Feasibility of mass production of *Tetrastichus howardi* (Olli), a parasitoid of leaf roller (*Diaphania pulverulentalis*), on *Musca domestica* (L.). Indian J. Sericicult. **46**: 89-91.

QUEIROZ A.P., BUENO A.D., POMARI-FERNANDES A., GRANDE M.L.M., BORTOLOTTO O.C., SILVA D.M. 2017. Quality control of *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygastridae) reared on the factitious host *Corcyra cephalonica* (Lepidoptera: Pyralidae) for successive generations. Bull. Entomol. Res. **107**: 791-798. DOI: 10.1017/S000748531700030X

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

ROYER L., FOURNET S., BRUNEL E., BOIVIN G. 1999. Intra- and interspecific host discrimination by host-seeking larvae of coleopteran parasitoids. Oecologia. **118**: 59-68.

SAGARRA L.A., VICENT C., STEWART R.K. 2001. Body size as an indicator of parasitoid quality in male and female *Anagyrus kamali* (Hymenoptera: Encyrtidae). Bull. Entomol. Res. **91**: 363-367.

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

SOARES M.A., GUTIERREZ C.T., ZANUNCIO, J.C., PEDROSA A.R.P., LORENZON A.S. 2009. Superparasitismo de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) y comportamiento de defensa de dos hospederos. Rev. Colomb. Entomol. **35**: 62-65.

UCKAN F., SINAN S., SAVASCI S., ERGIN E. 2004. Determination of venom components from the endoparasitoid wasp *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae). Ann. Entomol. Soc. Am. **97**: 775-780.

VAN ALPHEN J.J.M., VISSER M.E. 1990. Superparasitism as an adaptive strategy for insect parasitoids. Annu. Rev. Entomol. **35**: 59-79.

VAN LENTEREN J.C., BOLCKMANS K., KOHL J., RAVENSBERG W.J., URBANEJA A. 2018. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. Bio. Control. **63**: 39-59. DOI: 10.1007/s10526-017-9801-4

VARGAS E.L., PEREIRA F.F., CALADO V.R.F., GLAESER D.F., RODRIGUES B.A.C., SILVA N.V. 2014. Densidade de fêmeas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) por pupa de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). Sitientibus ser. Ci. Biol. **13**: 1-7. DOI: http://dx.doi:10.13102/scb227

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

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

ZACHÉ B., ZACHÉ R.R.C., WILCKEN C.F. 2012. Evaluation of *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) as parasitoid of the *Sarsina violascens* Herrich-Schaeffer (Lepidoptera: Lymantriidae). J. Plant Stud. **1**: 85-89.

ZANUNCIO J.C., PEREIRA F.F., JACQUES G.C., TAVARES M.T., E SERRÃO J.E. 2008. *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae), a new alternative host to rear the pupae parasitoid *Palmistichus elaeisis* Delvare & Lasalle (Hymenoptera: Eulophidae). Coleopt. Bull. **62**: 64–66.

ZANUNCIO JUNIOR J.S., VIANNA U.R., ZANUNCIO J.C., PEREIRA F.F. 2012. Técnica de criação de *Anticarsia gemmatalis* Hubner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae).

(In: Técnicas de criação de pragas de importância agrícola, em dietas naturais. D. PRATISSOLI ed. EDUFES, Vitória): 241-250.

ZHENG Y.H., ZHENG L.X., LIAO Y.L., WU W.J. 2016. Sexual dimorphism in antennal morphology and sensilla ultrastructure of a pupal endoparasitoid *Tetrastichus howardi* Olliff (Hymenoptera: Eulophidae). Micros. Res. Tech. **79**: 374–384.

Tabela 1. Características biológicas (Média ± EP) de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pré-pupas do hospedeiro alternativo *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae) com diferentes densidades de fêmea do parasitoide, a temperatura de 25 ± 2 °C, 70 ± 10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas

Tratamentos	Parasitismo (%)	Emergência (%)	Duração do Ciclo (dias)	Progênie Total	Progênie/ Fêmea	Razão Sexual	Comp. da Tíbia (mm)	Longevidade (dias)	
								Machos N(10)	Fêmeas N(15)
Densidade 1:1	80 ± 6,32	80,4 ± 8,35	21,33 ± 0,48	47,27 ± 4,43	41,33 ± 2,35	0,86 ± 0,06	0,56 ± 0,02	8,60 ± 0,86	10,00 ± 0,55
Densidade 5:1	100 ± 0,00	100 ± 0,00	17,32 ± 0,10	196,8 ± 8,51	35,12 ± 2,39	0,89 ± 0,02	0,54 ± 0,01	8,60 ± 0,95	6,87 ± 0,29
Densidade 10:1	100 ± 0,00	100 ± 0,00	16,44 ± 0,12	297,04 ± 10,01	26,48 ± 1,01	0,89 ± 0,01	0,50 ± 0,01	12,60 ± 1,6	7,33 ± 0,5
Densidade 15:1	100 ± 0,00	100 ± 0,00	16,68 ± 0,14	290,56 ± 19,61	16,59 ± 1,10	0,86 ± 0,01	0,44 ± 0,01	10,60 ± 1,72	6,53 ± 0,48
Densidade 20:1	100 ± 0,00	100 ± 0,00	16,84 ± 0,12	361,88 ± 15,13	14,78 ± 0,74	0,81 ± 0,01	0,44 ± 0,01	12,20 ± 0,88	11,13 ± 0,79
Densidade 25:1	100 ± 0,00	100 ± 0,00	17,04 ± 0,04	389,40 ± 4,03	12,31 ± 0,33	0,79 ± 0,02	0,44 ± 0,01	17,40 ± 2,17	10,67 ± 0,57
P	0,0002	0,0002	0,0003	0,0002	0,0014	ns	0,0059	0,0268	ns
C.V. (%)	5,97	7,88	2,80	9,92	14,04	7,02	7,55	39,31	24,35

ns – Não significativo pela análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de probabilidade.
C.V. – Coeficiente de variação.

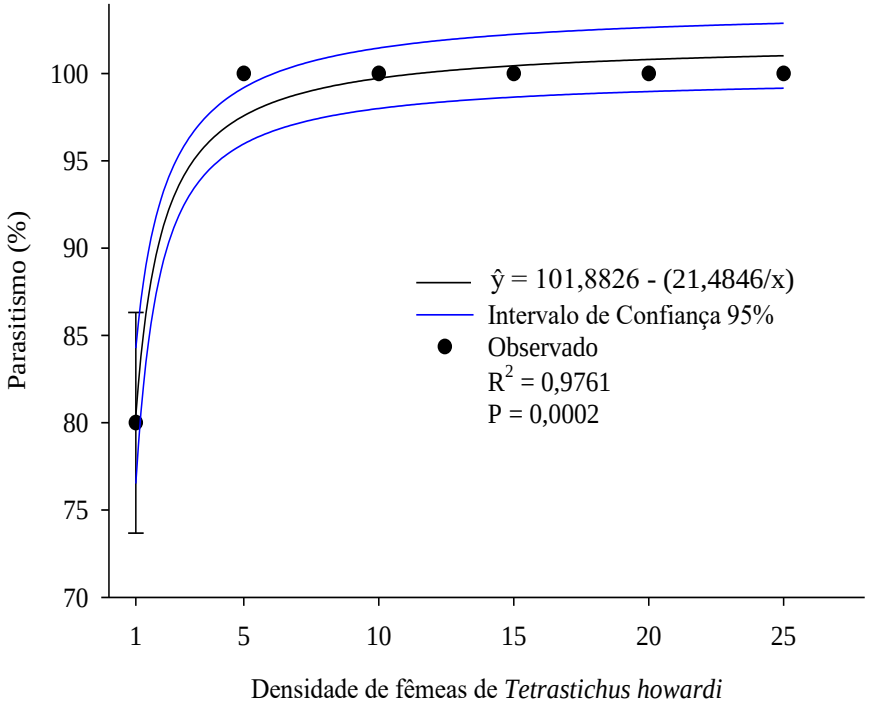


Figura 1. Porcentagem de parasitismo de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em função da densidade de fêmeas por pré-pupa de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae), a temperatura de 25±2ºC, 70±10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas. (P = 0,0002 e F = 163,4784).

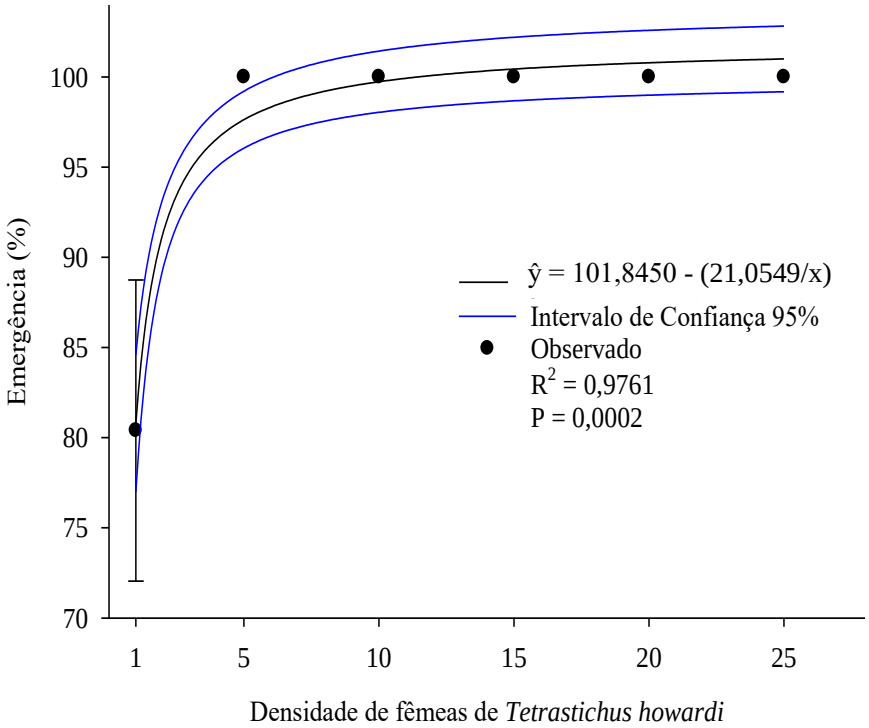


Figura 2. Porcentagem de emergência *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em função da densidade de fêmeas por pré-pupa de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae), a temperatura de 25±2ºC, 70±10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas. (P = 0,0002 e F = 163,4784).

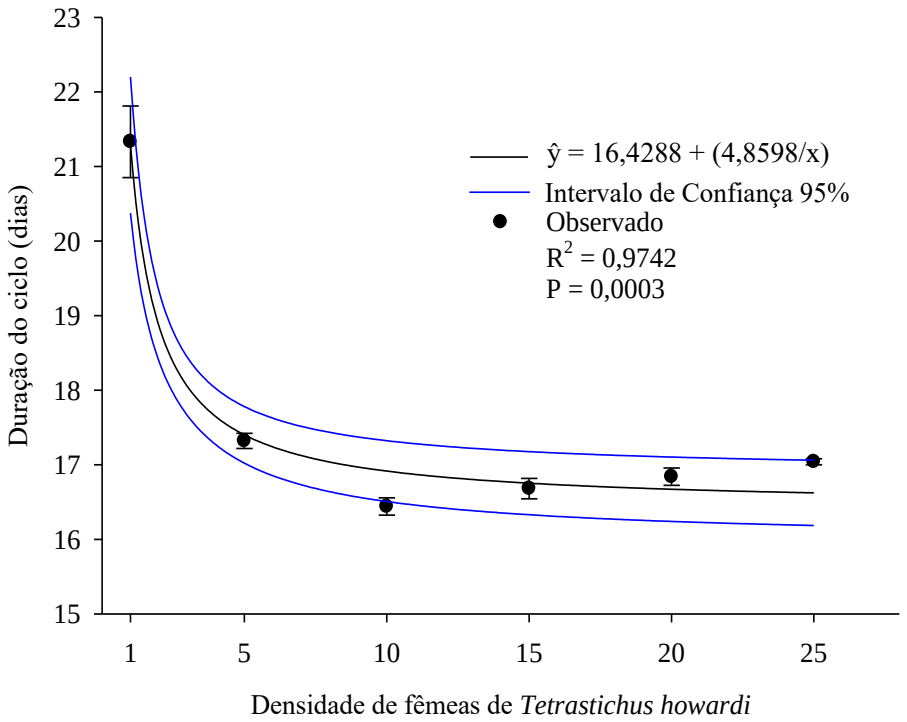


Figura 3. Duração do ciclo (ovo-adulto) de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em função da densidade de fêmeas por pré-pupa de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae), a temperatura de 25±2ºC, 70±10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas. (P = 0,0003 e F = 150,9517).

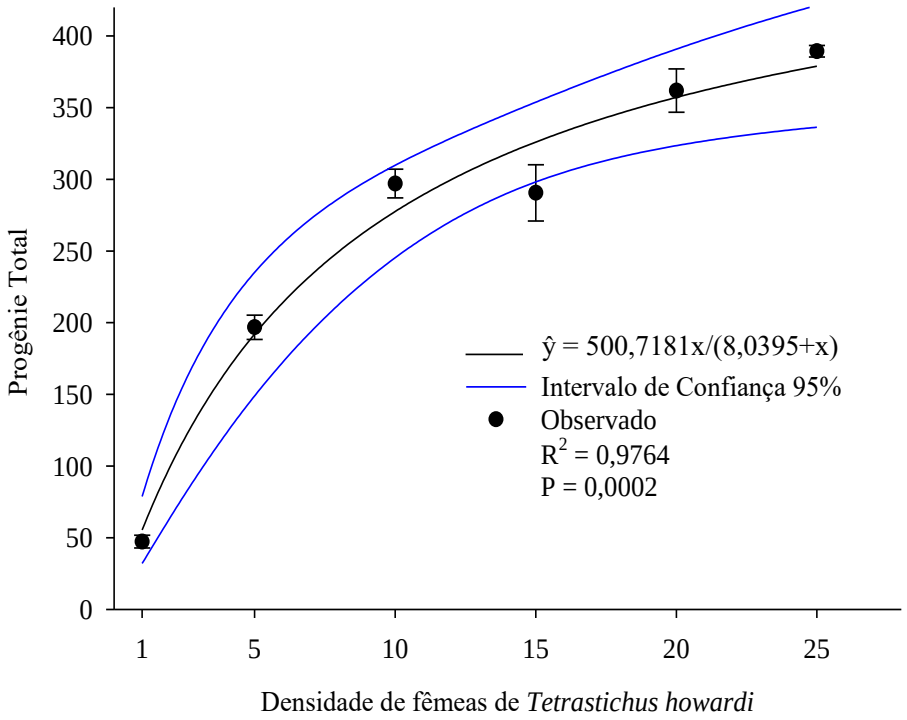


Figura 4. Progênie total (número de descendentes emergidos) de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em função da densidade de fêmeas por pré-pupa de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae), a temperatura de 25±2ºC, 70±10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas. (P = 0,0002 e F = 165,2906).

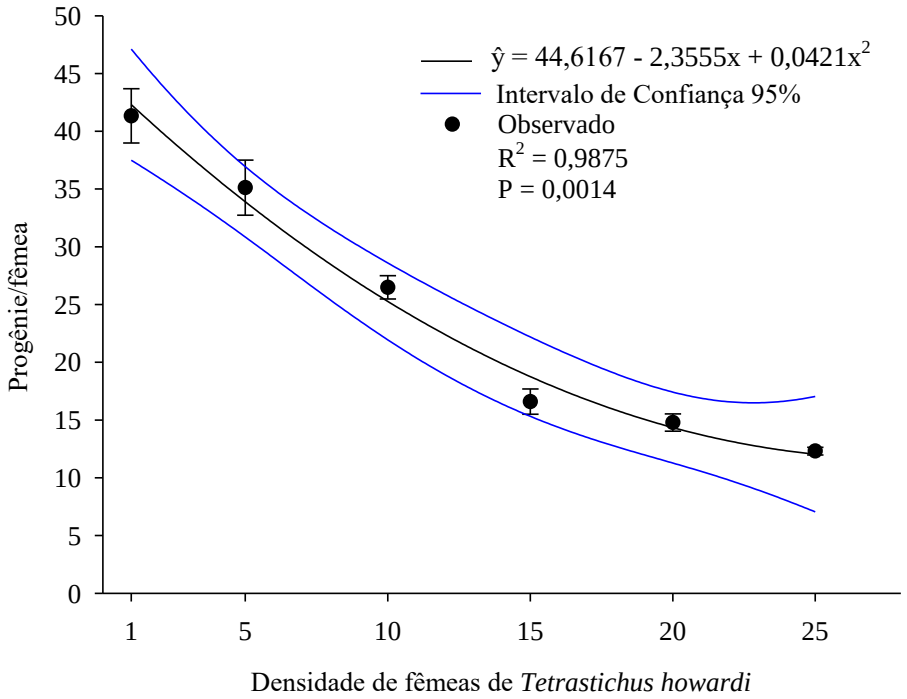


Figura 5. Progênie por fêmeas (fêmeas produzidas por fêmeas) de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em função da densidade de fêmeas por pré-pupa de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae), a temperatura de 25±2ºC, 70±10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas. (P = 0,0014 e F = 118,0521).

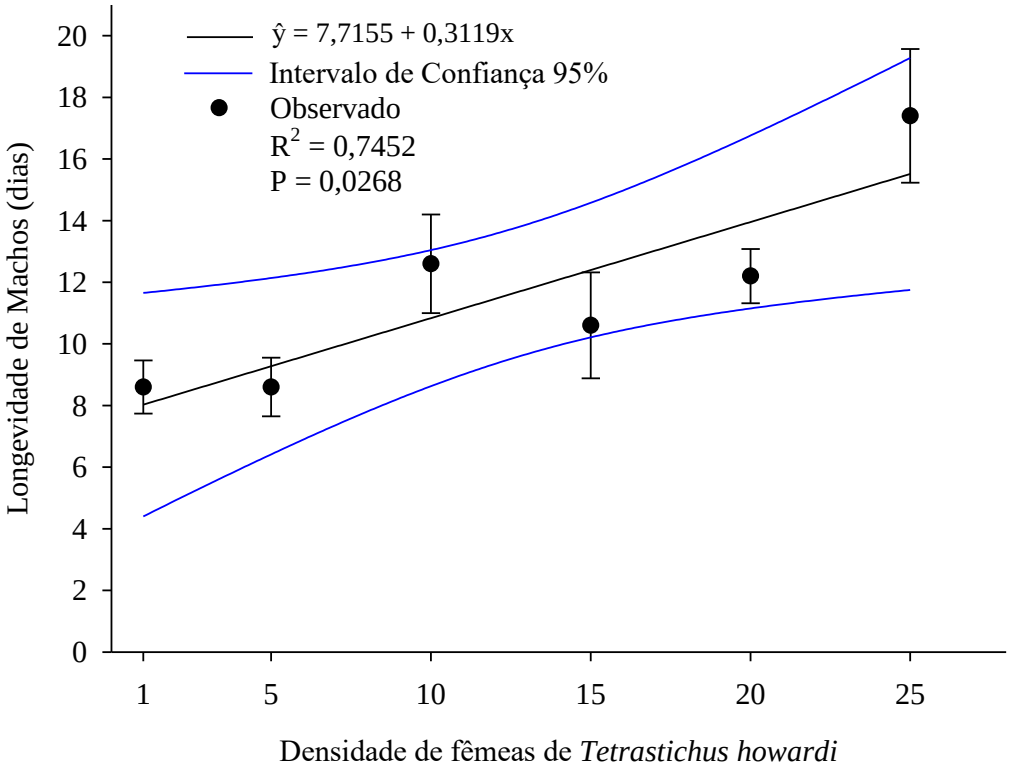


Figura 6. Longevidade de machos de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em função da densidade de fêmeas por pré-pupa de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae), a temperatura de 25±2ºC, 70±10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas. (P = 0,0268 e F = 11,6963).

Tabela 2. Características biológicas (Média ± EP) de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas do hospedeiro alternativo *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae) com diferentes densidades de fêmea do parasitoide, a temperatura de 25 ± 2°C, 70 ± 10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas

Tratamentos	Parasitismo (%)	Emergência (%)	Duração do Ciclo (dias)	Progênie Total	Progênie/ fêmea	Razão Sexual	Longevidade (dias)	
							Machos N(10)	Fêmeas N(15)
Densidade 1:1	70 ± 5,77	77,25 ± 7,81	23,58 ± 0,49	41,06 ± 2,51	39,89 ± 2,56	0,97 ± 0,01	7,80 ± 0,81	9,73 ± 0,28
Densidade 5:1	92 ± 4,90	100 ± 0,00	18,20 ± 0,50	140,40 ± 24,42	25,98 ± 4,51	0,92 ± 0,01	9,50 ± 0,89	8,93 ± 0,36
Densidade 10:1	100 ± 0,00	100 ± 0,00	16,64 ± 0,23	234,40 ± 15,28	20,82 ± 1,15	0,89 ± 0,01	10,30 ± 1,59	8,97 ± 0,57
Densidade 15:1	100 ± 0,00	100 ± 0,00	16,28 ± 0,15	296,36 ± 9,45	17,19 ± 0,53	0,87 ± 0,01	6,60 ± 0,69	7,13 ± 0,43
Densidade 20:1	100 ± 0,00	100 ± 0,00	16,24 ± 0,25	352,16 ± 20,20	14,45 ± 0,78	0,83 ± 0,01	14,10 ± 1,27	10,90 ± 0,76
Densidade 25:1	100 ± 0,00	100 ± 0,00	15,96 ± 0,07	414 ± 3,98	13,11 ± 0,36	0,79 ± 0,02	21,20 ± 1,53	11,40 ± 1,17
P	0,0001	0,0002	<0,0001	0,0002	0,0072	0,0002	0,0140	ns
C.V. (%)	6,55	5,83	3,89	13,50	22,59	3,41	32,33	27,23

ns – Não significativo pela análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de probabilidade.
C.V. – Coeficiente de variação.

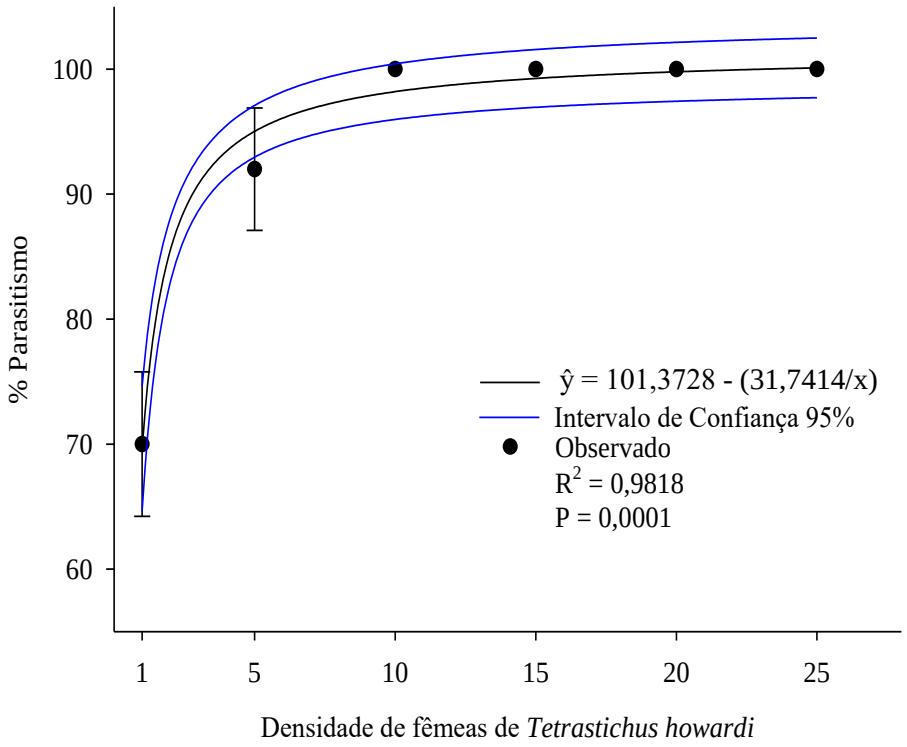


Figura 7. Porcentagem de Parasitismo *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em função da densidade de fêmeas por pupa de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae), a 25±2ºC, 70±10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas. (P = 0,0001 e F = 216,2356).

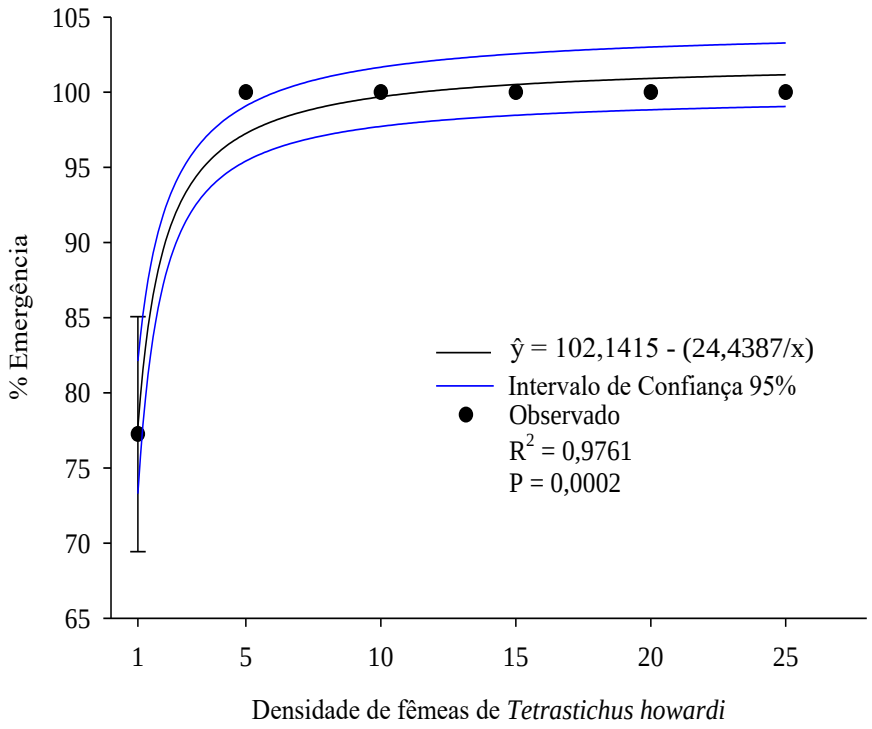


Figura 8. Porcentagem de Emergência *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em função da densidade de fêmeas por pupa de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae), a 25±2ºC, 70±10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas(P = 0,0002 e F = 163,4784).

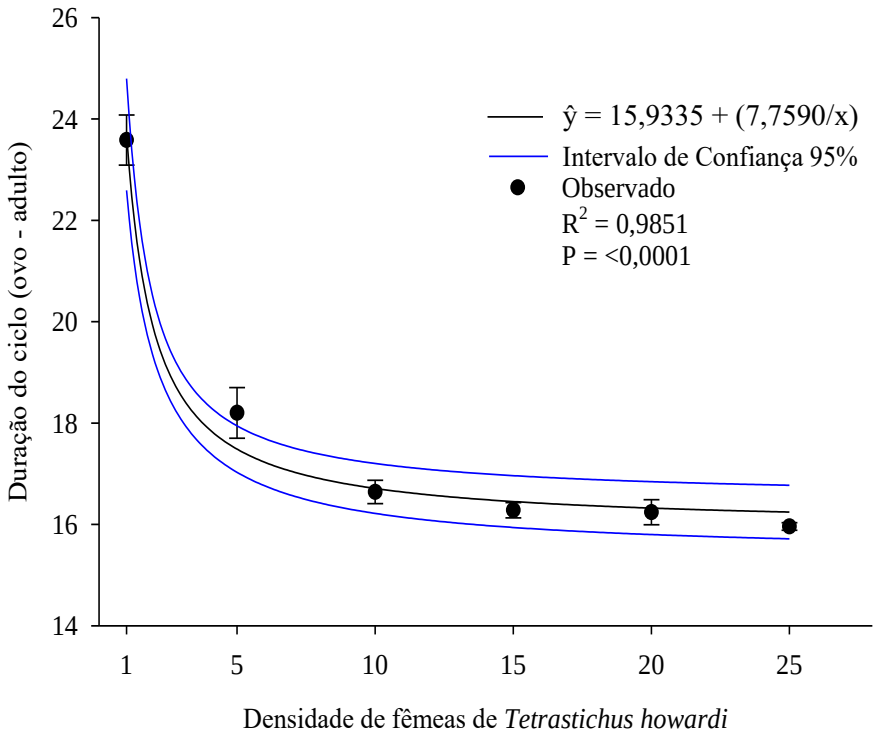


Figura 9. Duração do ciclo (ovo-adulto) de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em função da densidade de fêmeas por pupa de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae), a temperatura de 25±2ºC, 70±10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas. (P = <0,0001 e F = 263,6208).

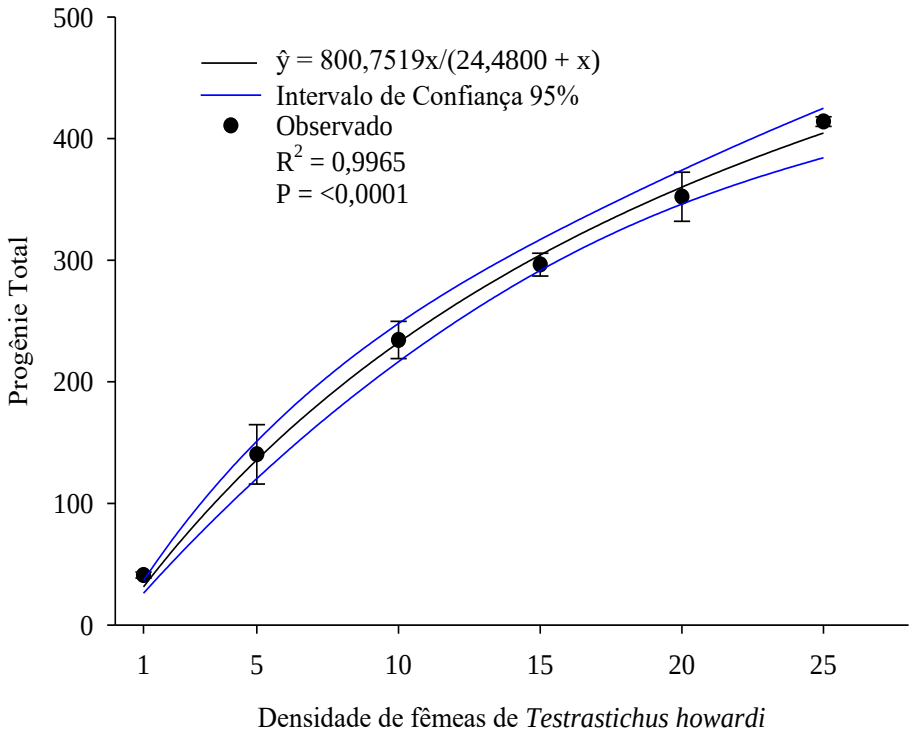


Figura 10. Progênie Total (número de descendentes emergidos) de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em função da densidade de fêmeas por pupa de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae), a temperatura de 25±2ºC, 70±10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas. (P = <0,0001e F = 1145,9418).

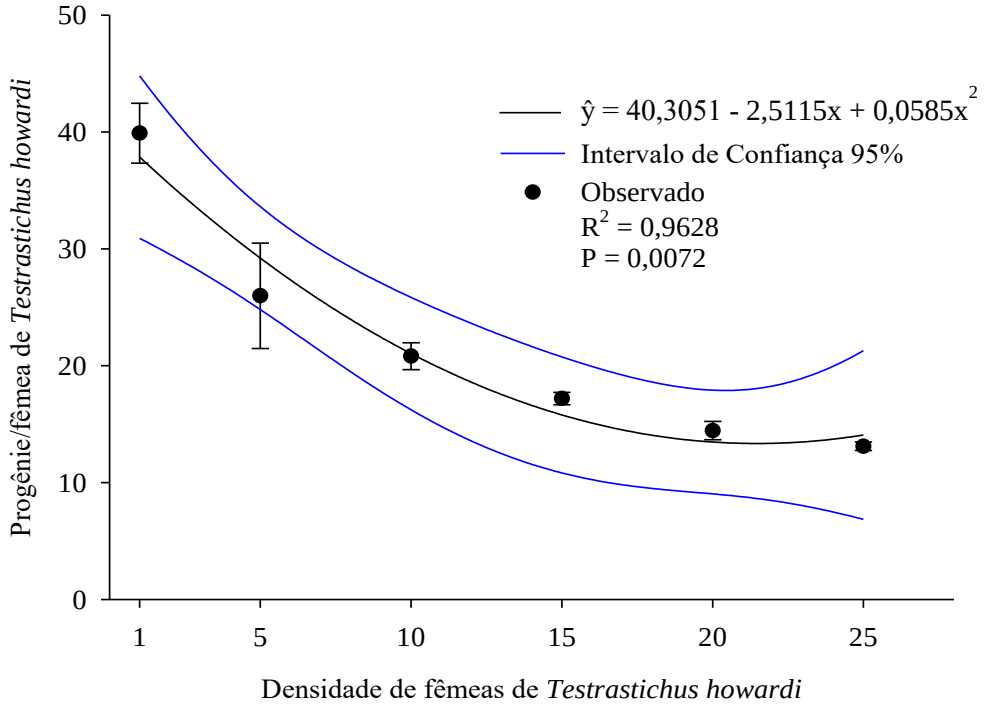


Figura 11. Progênie por fêmeas (fêmeas produzidas por fêmeas) de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em função da densidade de fêmeas por pupa de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae), a temperatura de 25±2ºC, 70±10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas. (P = 0,0072 e F = 38,8085).

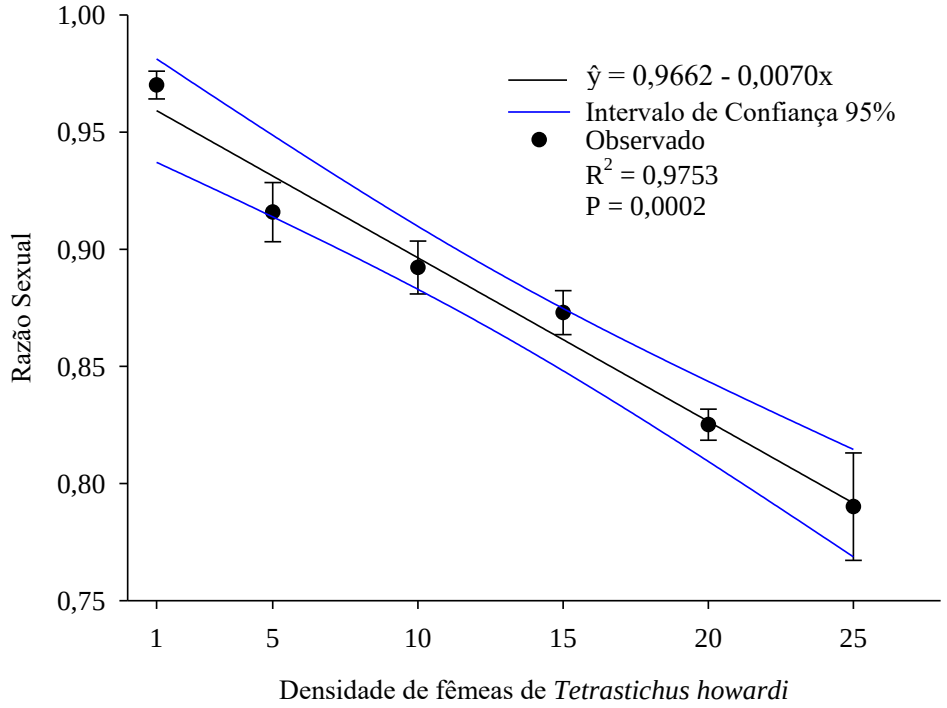


Figura 12. Razão Sexual de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em função da densidade de fêmeas por pupa de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae), a temperatura de 25±2ºC, 70±10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas. (P = 0,0002 e F = 157,9003).

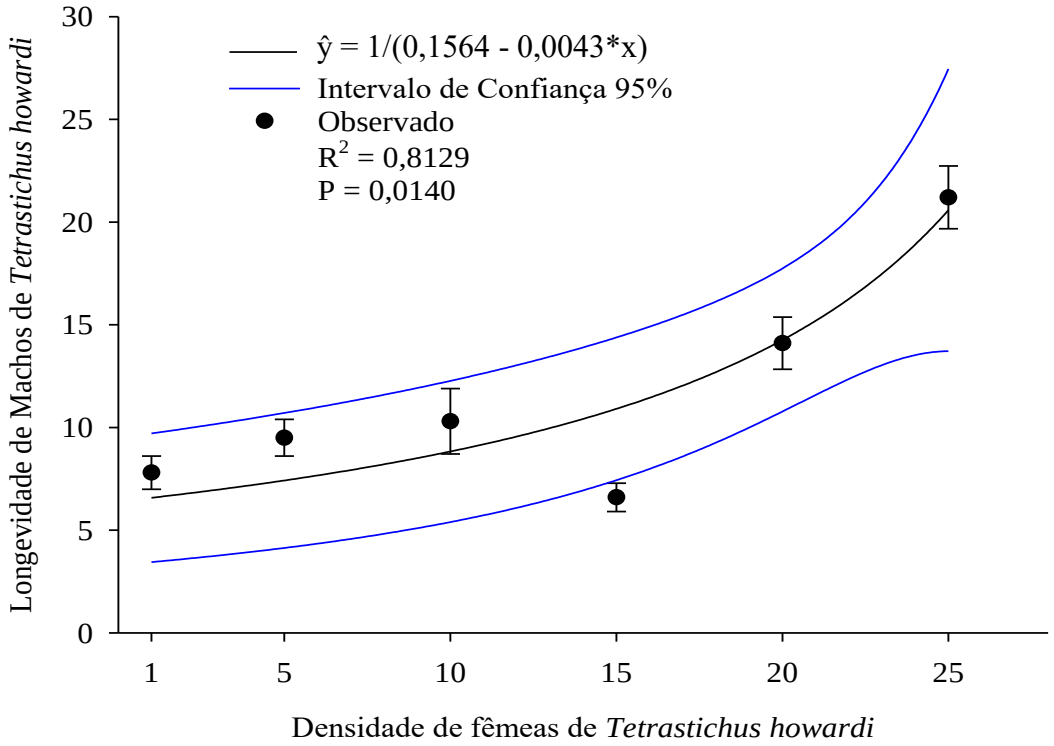


Figura 13. Longevidade de machos de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em função da densidade de fêmeas por pupa de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae), a temperatura de 25±2ºC, 70±10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas. (P = 0,0140 e F = 17,3760).

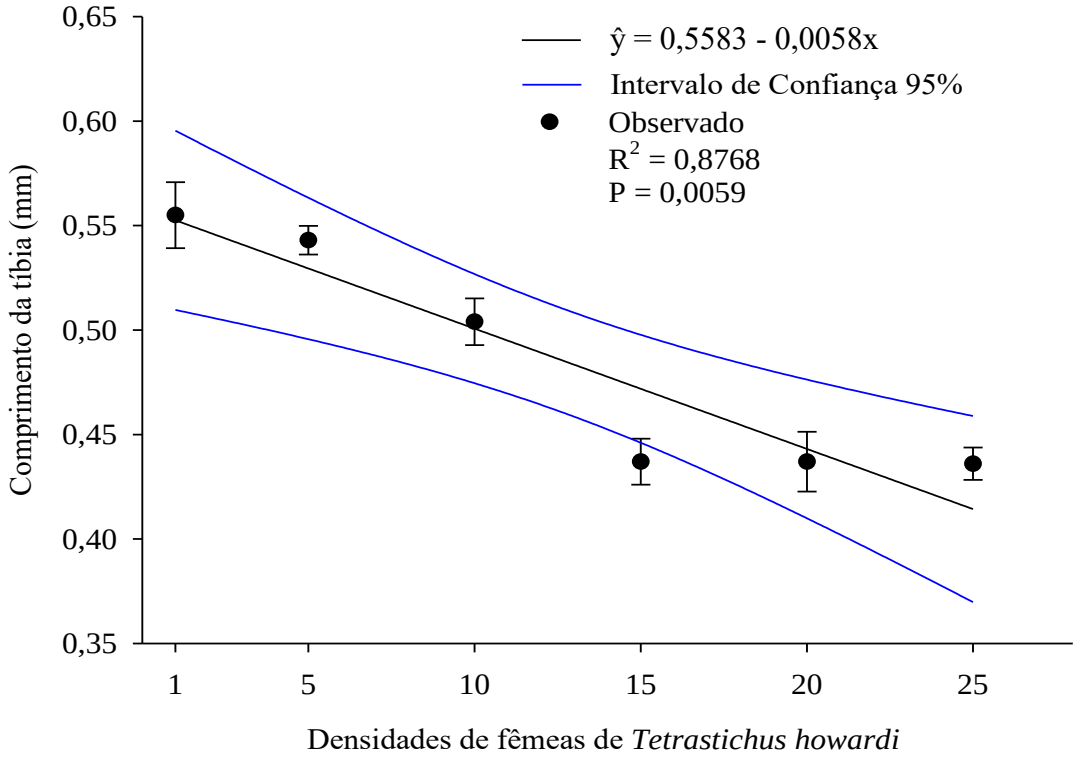


Figura 14. Comprimento médio das tíbias de fêmeas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em função da densidade de fêmeas por pupa de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae), a temperatura de 25±2ºC, 70±10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas. (P = 0,0059 e F = 28,4798).

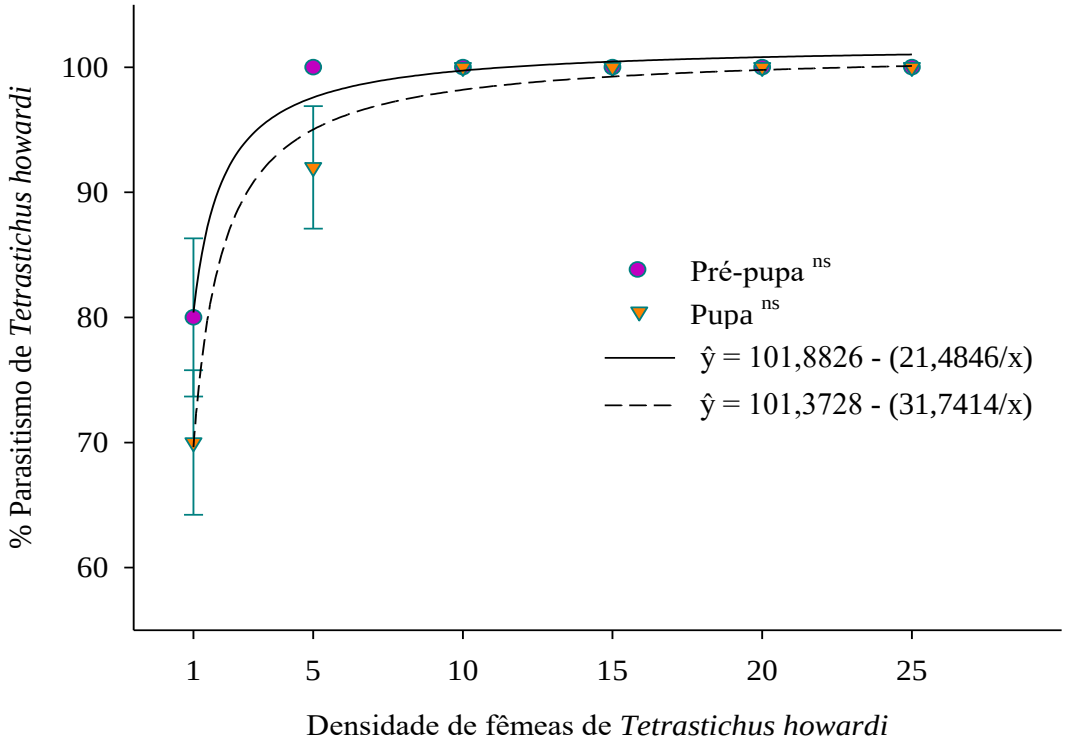


Figura 15. Porcentagem de parasitismo *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae), comparando pré-pupa e pupa de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae), nas densidades de 1:1, 5:1, 10:1, 15:1, 201:1 e 25:1 parasitoide por hospedeiro, a temperatura de 25±2ºC, 70±10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas.

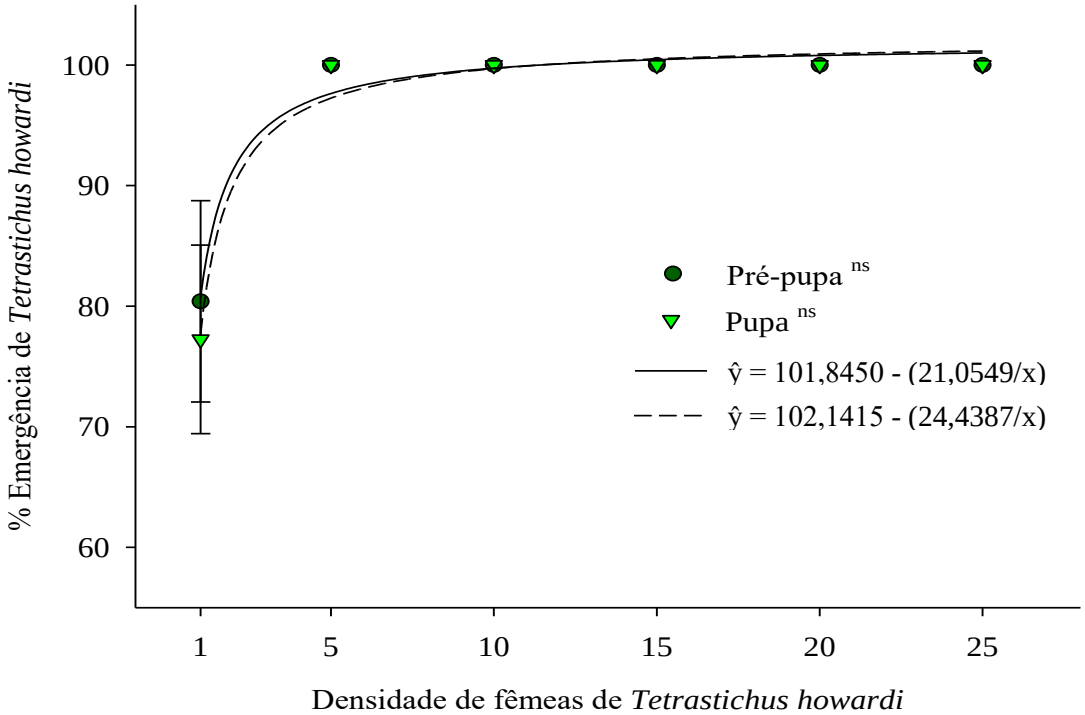


Figura 16. Porcentagem de Emergência *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae), comparando pré-pupa e pupa de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae), nas densidades de 1:1, 5:1, 10:1, 15:1, 201:1 e 25:1 parasitoide por hospedeiro, a temperatura de 25±2ºC, 70±10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas.

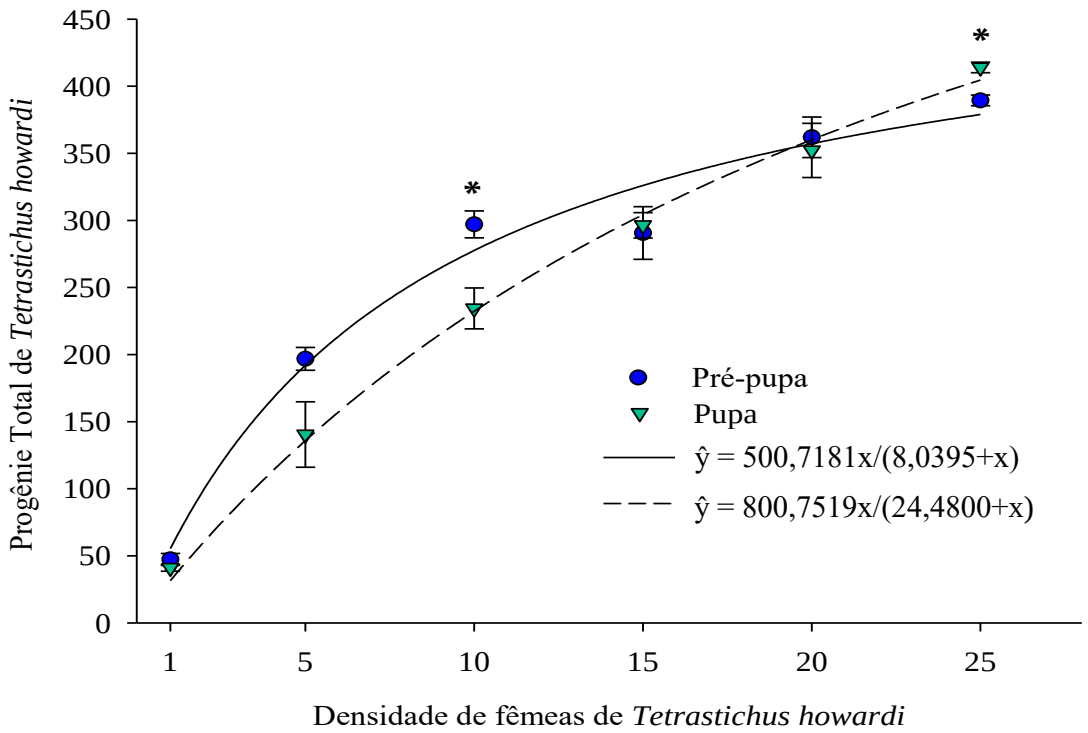


Figura 17. Progênie Total de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae), comparando pré-pupa e pupa de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae), nas densidades de 1:1, 5:1, 10:1, 15:1, 201:1 e 25:1 parasitoide por hospedeiro, a temperatura de 25±2ºC, 70±10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas.

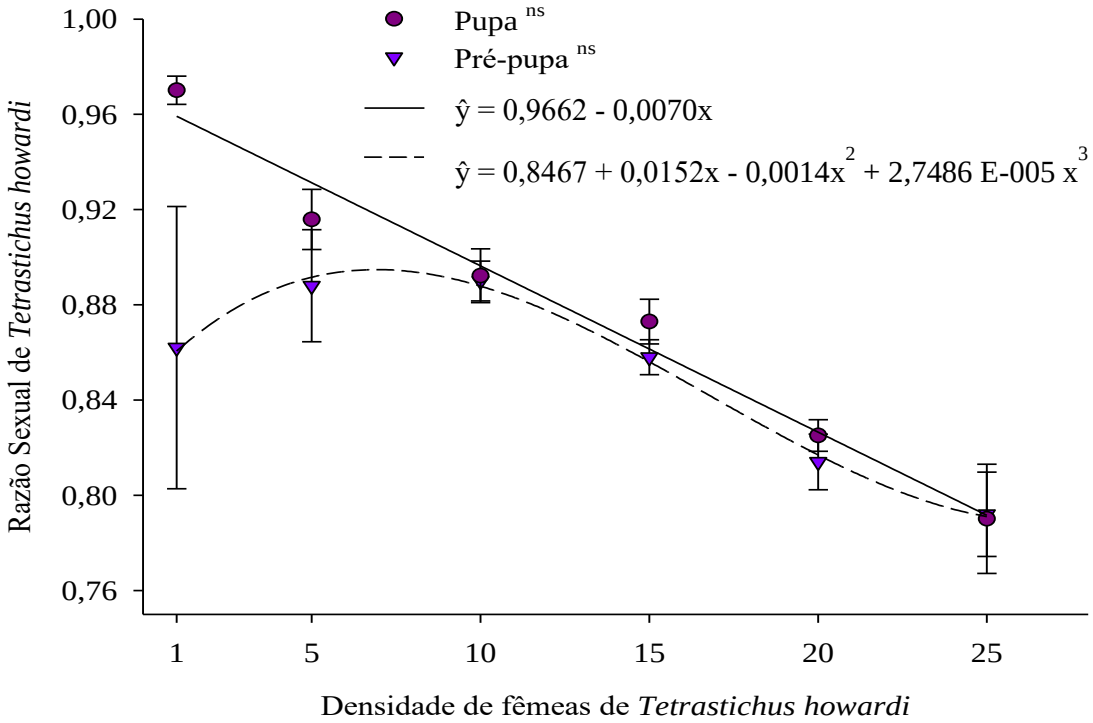


Figura 18. Razão Sexual de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae), comparando pré-pupa e pupa de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae), nas densidades de 1:1, 5:1, 10:1, 15:1, 201:1 e 25:1 parasitoide por hospedeiro, a temperatura de 25±2ºC, 70±10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas.

CONCLUSÕES GERAIS

Fêmeas de *T. howardi* parasitam e se desenvolvem em lagartas de quarto ínstar de *A. gemmatalis* nas densidades de 1, 5, 10, 15, 20 e 25, fêmeas por hospedeiro em condições de laboratório e causam mortalidade por meio do parasitismo em semi-campo.

Tetrastichus howardi parasitou com êxito pré-pupas e pupas de *A. gemmatalis* em todas as densidades 1:1, 5:1, 10:1, 15:1, 20:1 e 25:1 de fêmeas parasitoides testadas por hospedeiro, demonstrando a adequabilidade destas fases do hospedeiro para multiplicação e produção massal do parasitoide.

De maneira geral, 5 a 10 fêmeas de *T. howardi* por pré-pupa ou por pupa de *A. gemmatalis* é a faixa de densidade de fêmeas indicada para a multiplicação desse inimigo natural, proporcionando valores considerados ótimos para os parâmetros biológicos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste trabalho incrementam o conhecimento sobre o desenvolvimento e reprodução de *T. howardi*, apresentando resultados inéditos a respeito do parasitismo de lagartas de quarto ínstar de *A. gemmatalis* por fêmeas de *T. howardi* e por ter emergido em diferentes fases de desenvolvimento desse hospedeiro (larva, pré-pupa e pupa), demonstrando a plasticidade das fêmeas parasitoides e sua capacidade de adaptação ao hospedeiro, superando as defesas imunológicas do mesmo.

Essa pesquisa permite estimar a quantidade de parasitoides que se desenvolvem em dada densidade de fêmeas de *T. howardi* sob a fase larval de *A. gemmatalis*. Há evidências de que apenas um indivíduo de *T. howardi* possui a capacidade de parasitar e causar mortalidade a uma lagarta de quarto ínstar de *A. gemmatalis.* Essas informações são relevantes para o manejo integrado de pragas da soja, pois em condições de campo, o parasitismo por si só poderá ser suficiente para impedir a continuação do ciclo de vida da praga-alvo, contribuindo assim para a diminuição da densidade populacional da praga.

A tendência futura é corroborar para a implementação de bases em um programa de controle biológico desse lepidóptero-desfolhador, além de abrir novas perspectivas de estudos para controle de outras pragas-chave da soja, como *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858), lepidóptero com grande destaque no cenário agrícola nacional. As pesquisas futuras tendem a buscar respostas para ajustar a quantidade de parasitoides a serem liberados por unidade de área ou em função da população da praga-alvo, realizando ensaios sobre a dispersão desses parasitoides, a fim de se obter maior êxito em programas de controle biológico.

Dessa forma, novos estudos devem ser conduzidos para verificar a capacidade e eficiência de fêmeas de *T. howardi* em condições de campo, objetivando avaliar sua ação sobre lagartas e pré-pupas, tendo em vista que as pupas de *A. gemmatalis* localizam-se geralmente nos primeiros centímetros do solo e não são localizadas pelo parasitoide. A possibilidade da utilização combinada de *T. howardi* aliado a outras espécies parasitoides de ovos de lepidópteros-praga, como *Trichogramma* spp., no controle de *A. gemmatalis* também é outra proposta para pesquisas futuras. Adicionalmente, a dinâmica populacional do parasitoide em conjunto com o comportamento do lepidóptero-praga nas lavouras também deve ser levada em consideração futuramente.

Os resultados obtidos nessa pesquisa são importantes, pois contribuem para o aprimoramento da técnica de multiplicação de *T. howardi*, para a obtenção desse agente de controle biológico com qualidade, na realização de estudos científicos ou para o estabelecimento de multiplicação massal visando o seu emprego futuro. A maior contribuição desse estudo está relacionado a demonstração da capacidade biológica de fêmeas do parasitoide *T. howardi* frente a três diferentes estágios de desenvolvimento deste hospedeiro alternativo, demonstrando o quanto esse parasitoide é versátil quanto a sua multiplicação nesse hospedeiro, pois pode-se utilizá-lo tanto nas pré-pupas como nas pupas de *A. gemmatalis* para sua multiplicação em laboratório, mantendo a eficiência dos agentes de controle biológico.

ANEXOS

ANEXO 1. Composição da dieta artificial para manutenção da criação de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae) (Adaptada de Greene *et. al.* 1976)

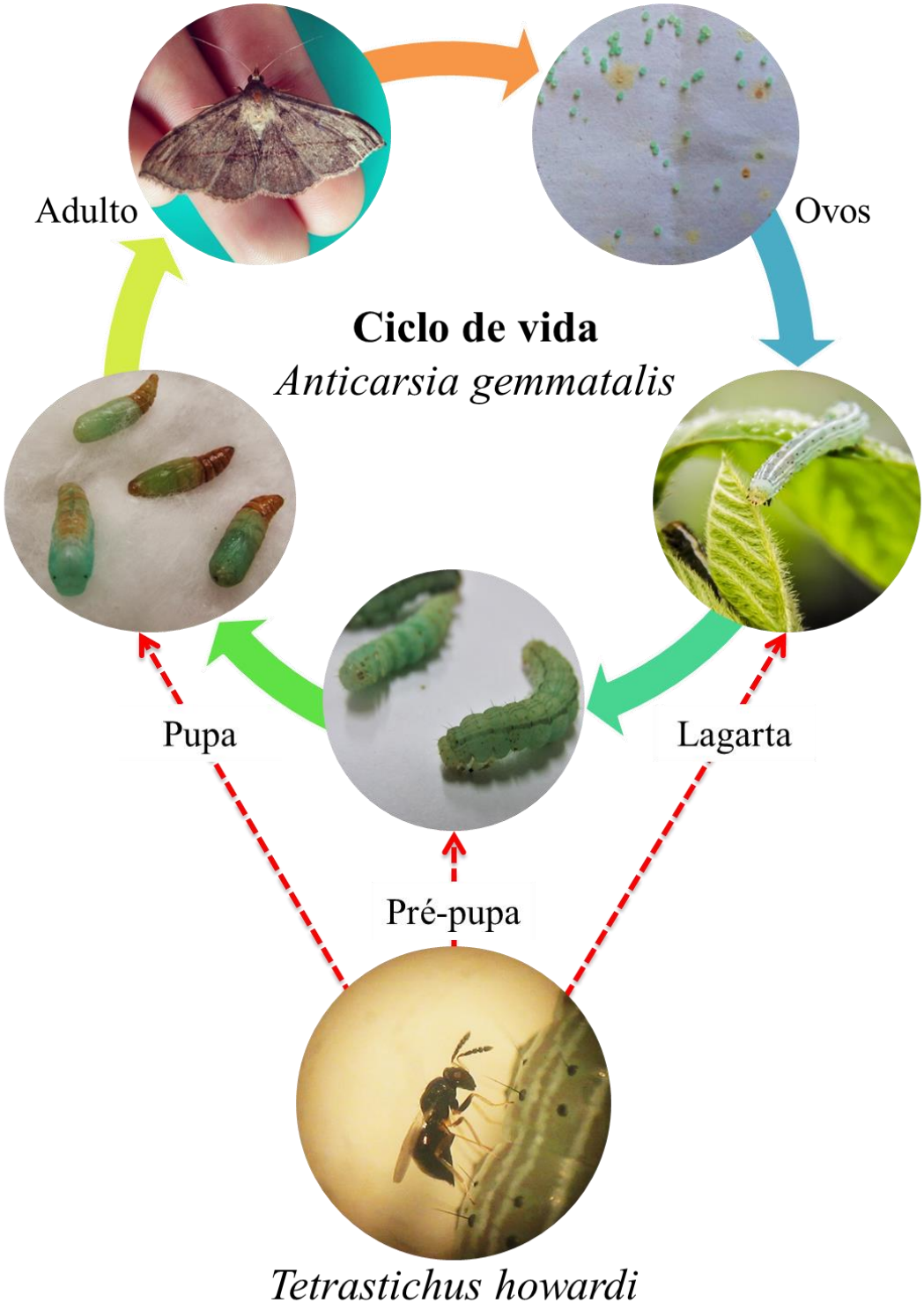
Ingredientes	**Quantidade[1]**	**Finalidade**
Água	3.400 mL	Solvente
Ágar	46 g	Espessante
Feijão	250 g	Proteína
Germe-de-trigo não tostado	200 g	Proteína
Caseína	75 g	Proteína
Levedura de cerveja	125 g	Proteína
Proteína de soja texturizada	100 g	Proteína
Mistura vitamínica*	20 g	Vitamina
Nipagin	15 g	Conservante
Ácido sórbico	6 g	Conservante
Ácido ascórbico	12 g	Vitamina
Formaldeído 40%	12 mL	Anticontaminante
Tetraciclina	250 g	Anticontaminante
*Composição da mistura vitamínica de Vanderzant		
Niacinamida	1,000 mg	
Pantotenato de cálcio	1,000 mg	
Tiamina HCl	0,250 mg	
Riboflavina	0,500 mg	
Piridoxina HCl	0,250 mg	
Ácido fólico	0,250 mg	
Biotina	0,020 mg	
Vitamina B_{12}	0,002 mg	

[1]Quantidade correspontente a 6 potes plásticos transparentes (1000 mL).

ANEXO 2. Composição da dieta para manutenção dos adultos de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae) (Adaptada de Greene *et. al.* 1976)

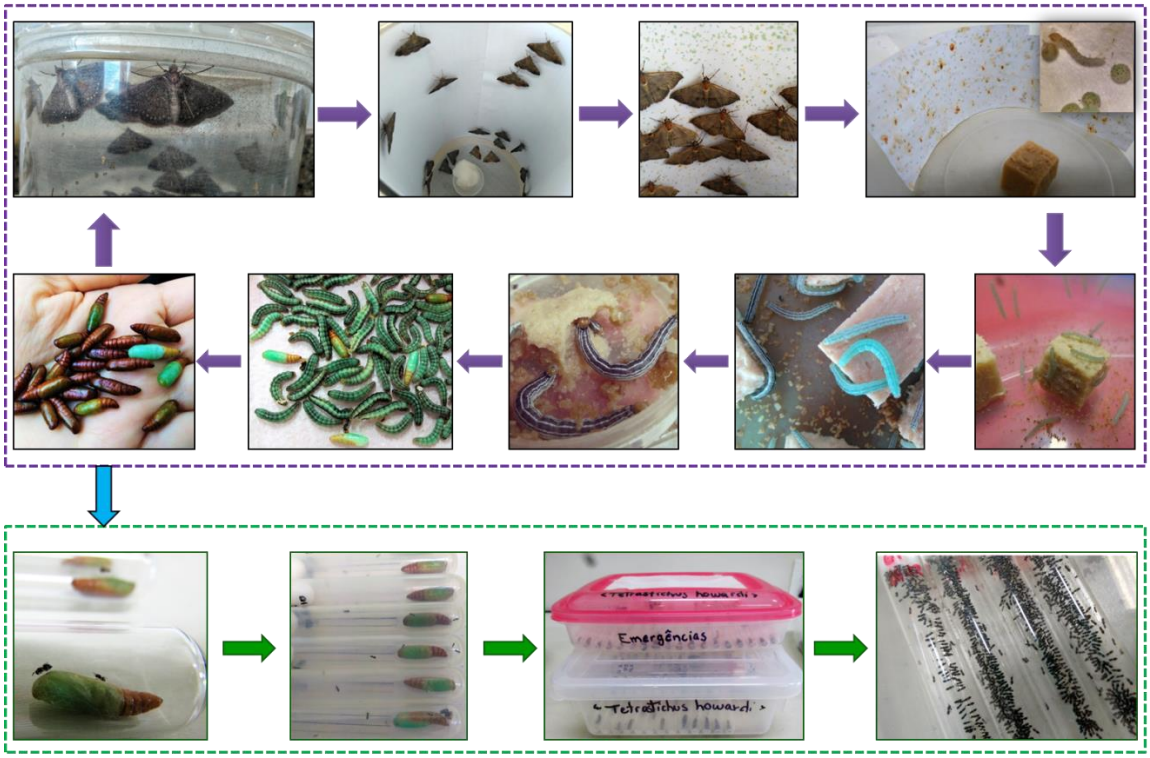
Ingredientes	**Quantidade**	**Finalidade**
Água destilada	1000 ml	Solvente
Açúcar	60 g	Carboidrato
Mel	10 g	Carboidrato
Nipagin	1g	Conservante
Ácido sórbico	1 g	Conservante

ANEXO 3. Fases de exploração do hospedeiro *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae) pelo parasitoide *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae)



ANEXO 4. Esquema de multiplicação do hospedeiro alternativo *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae) e do parasitoide *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL), da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil

***Anticarsia gemmatalis* (LEPIDOPTERA: EREBIDAE)**

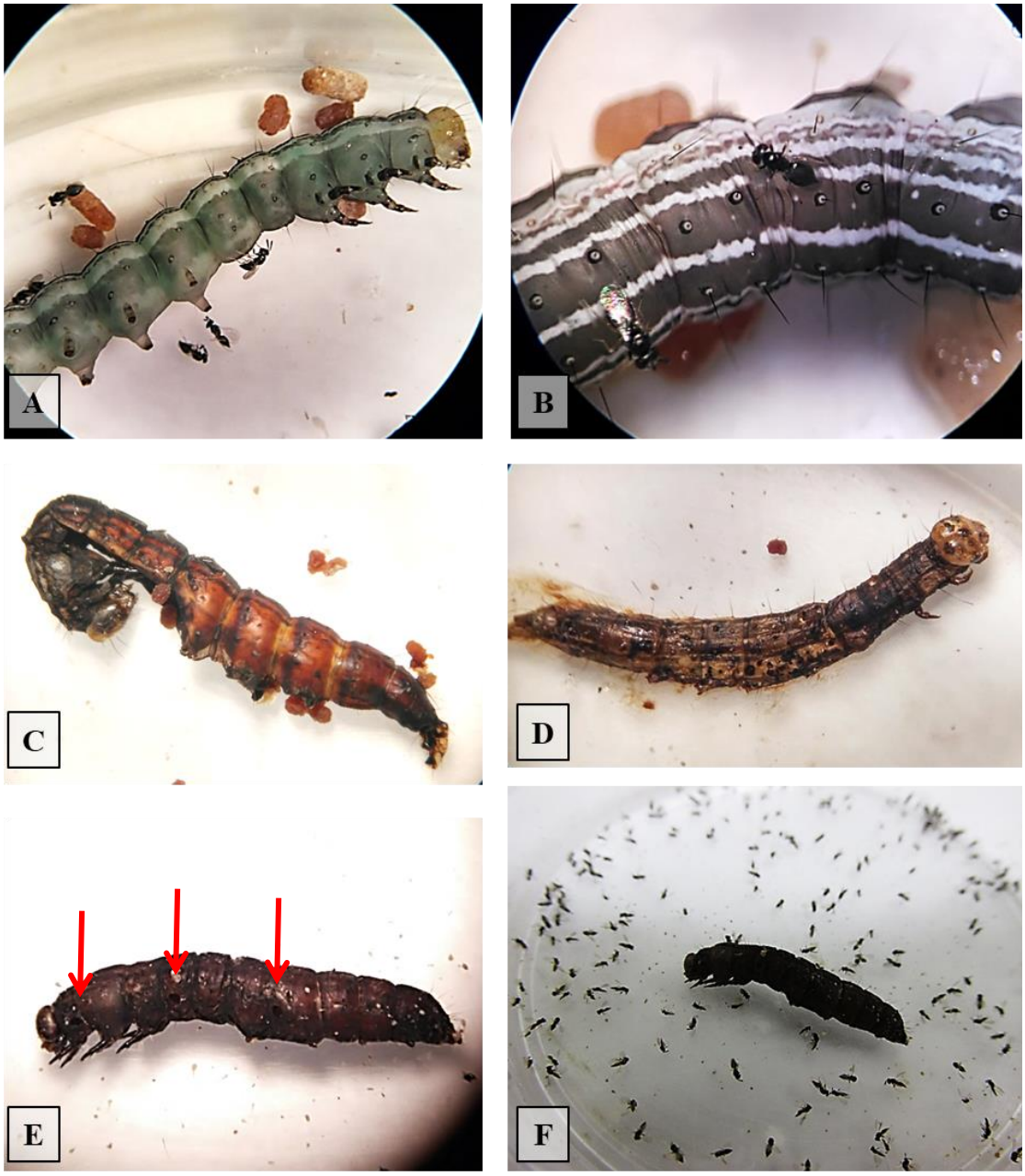


***Tetrastichus howardi* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE)**

ANEXO 5. Ensaio de laboratório desenvolvido com lagartas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae) e liberações de diferentes densidades de fêmeas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae), conduzido no laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL), da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil

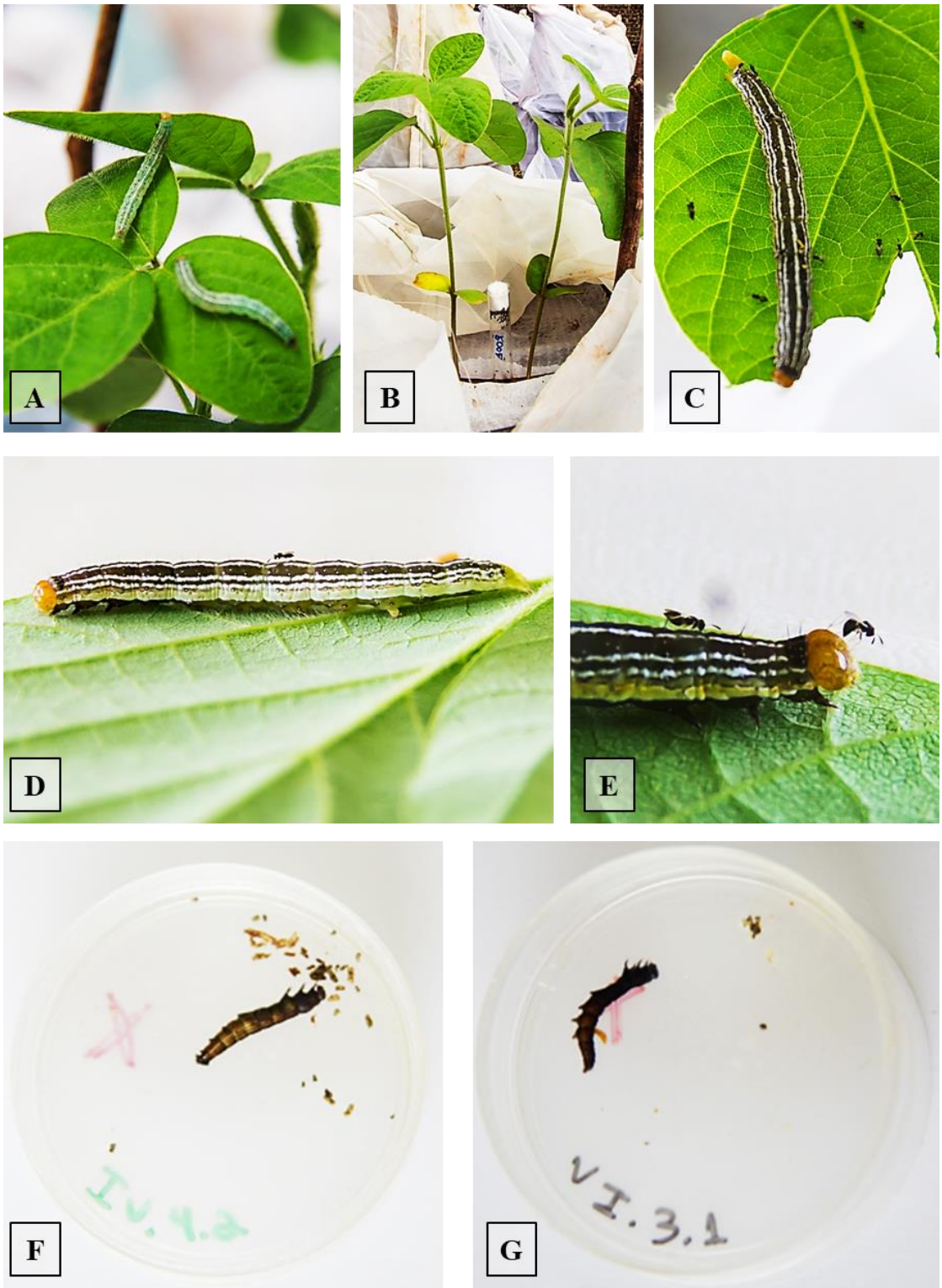
A e B - Fêmea de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitando lagarta de quarto ínstar de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae); **C** – Lagarta de quinto ínstar parasitada por *T. howardi* após 96 horas; **D** – Aspecto característico do processo de parasitismo por fêmeas de *T. howardi*, adquirindo coloração escura e enrijecimento do tegumento.

ANEXO 6. Ensaio de laboratório desenvolvido com lagartas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae) e liberações de diferentes densidades de fêmeas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae), conduzido no laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL), da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil



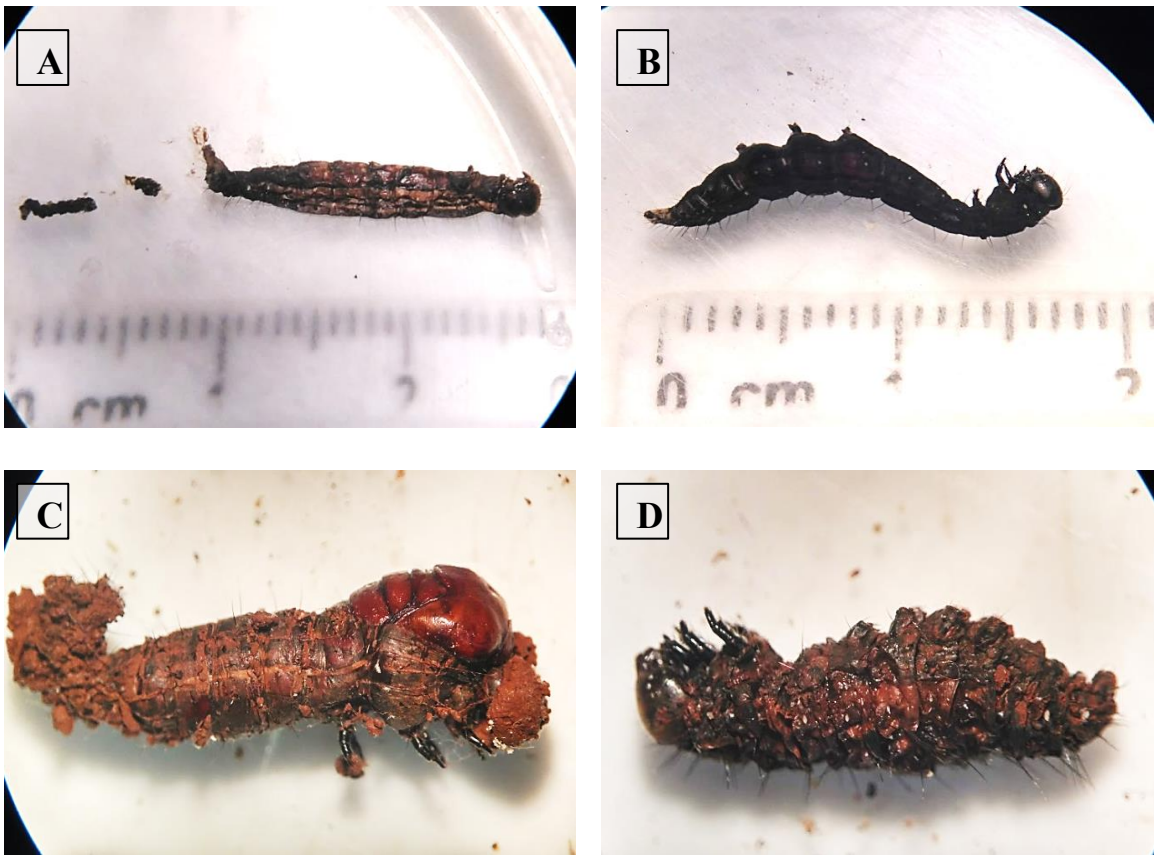
A – Lagarta de quinto ínstar parasitada por *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) após 96 horas; **B** – Aspecto característico do processo de parasitismo por fêmeas de *T. howardi*, *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae) adquirindo tegumento flácido e sem brilho; **C** e **D** – Aspecto característico do processo de parasitismo por fêmeas de *T. howardi*, coloração marrom escura e enrijecimento do tegumento; **C** e **D –** *A. gemmatalis* parasitada com os orifícios de saída dos adultos e com emergência de progênie.

ANEXO 7. Experimento de semi-campo desenvolvido com lagartas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae) e liberações de diferentes densidades de fêmeas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae), conduzido em casa-de-vegetação da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil



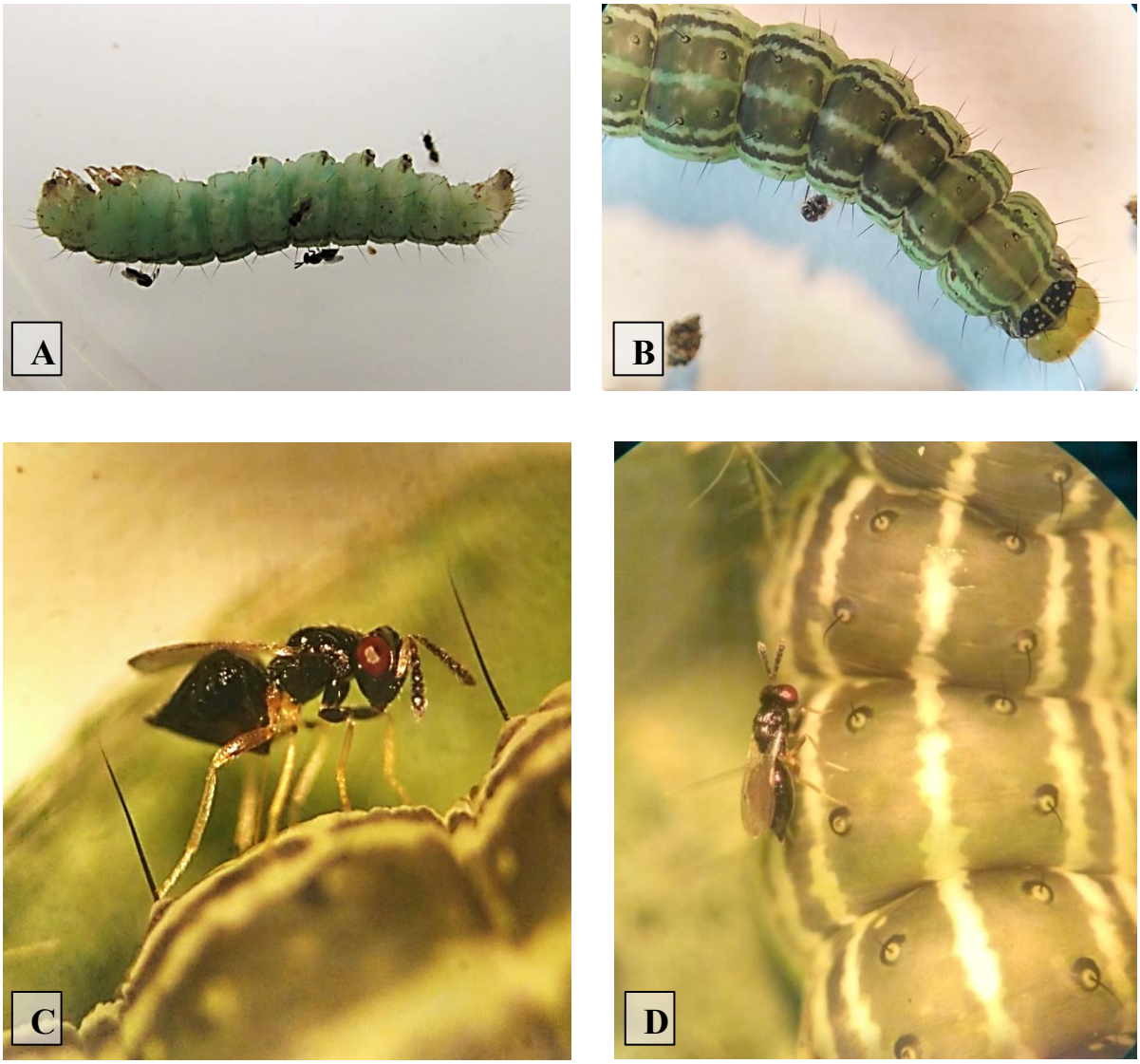
A – Lagarta-da-soja de quarto ínstar liberadas por planta; B – Disposição da unidade de parasitismo e liberação; C, D e E – Processo de parasitismo de *Anticarsia gemmatalis* em soja; F e G – Lagartas com características de parasitismo por *Tetrasthicus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae.

ANEXO 8. Experimento de semi-campo desenvolvido com lagartas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae) e liberações de diferentes densidades de fêmeas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae), conduzido em casa-de-vegetação da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil



A e **B** – Lagarta de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae) parasitada por *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) após 96 horas em condições de semi-campo; **C** e **D** – Aspecto característico do processo de parasitismo de *A. gemmatalis* por fêmeas de *T. howardi*, com coloração marrom escura e enrijecimento do tegumento.

ANEXO 9. Ensaio de laboratório desenvolvido com pré-pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae) e diferentes densidades de fêmeas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae), conduzido no laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL), da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil



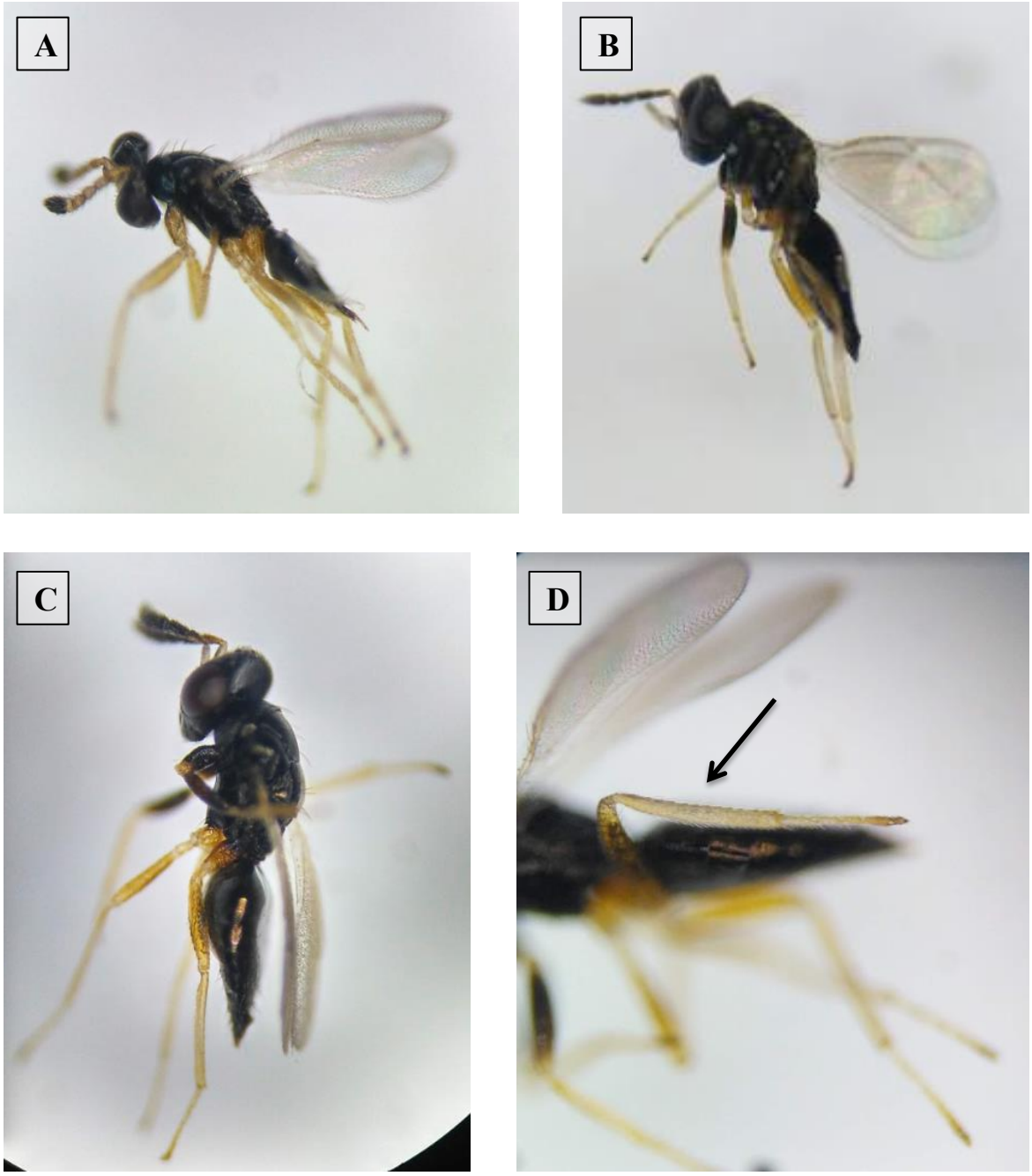
A e **B** - Fêmeas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitando pré-pupa de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae); **C** e **D** – Imagem aproximada de *T. howardi* inserindo seu ovipositor e realizando o parasitismo em pré-pupa de *A. gemmatalis*.

ANEXO 10. Ensaio de laboratório desenvolvido com pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidotera: Erebidae) e diferentes densidades de fêmeas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae), conduzido no laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL), da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil

A – Pupas de *A. gemmatalis* com 24 horas de idade para montagem do bioensaio; **B** – Fêmeas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitando pupa de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae); **C** e **D** – Imagem aproximada de *T. howardi* inserindo seu ovipositor e realizando o parasitismo em pupa de *A. gemmatalis*.

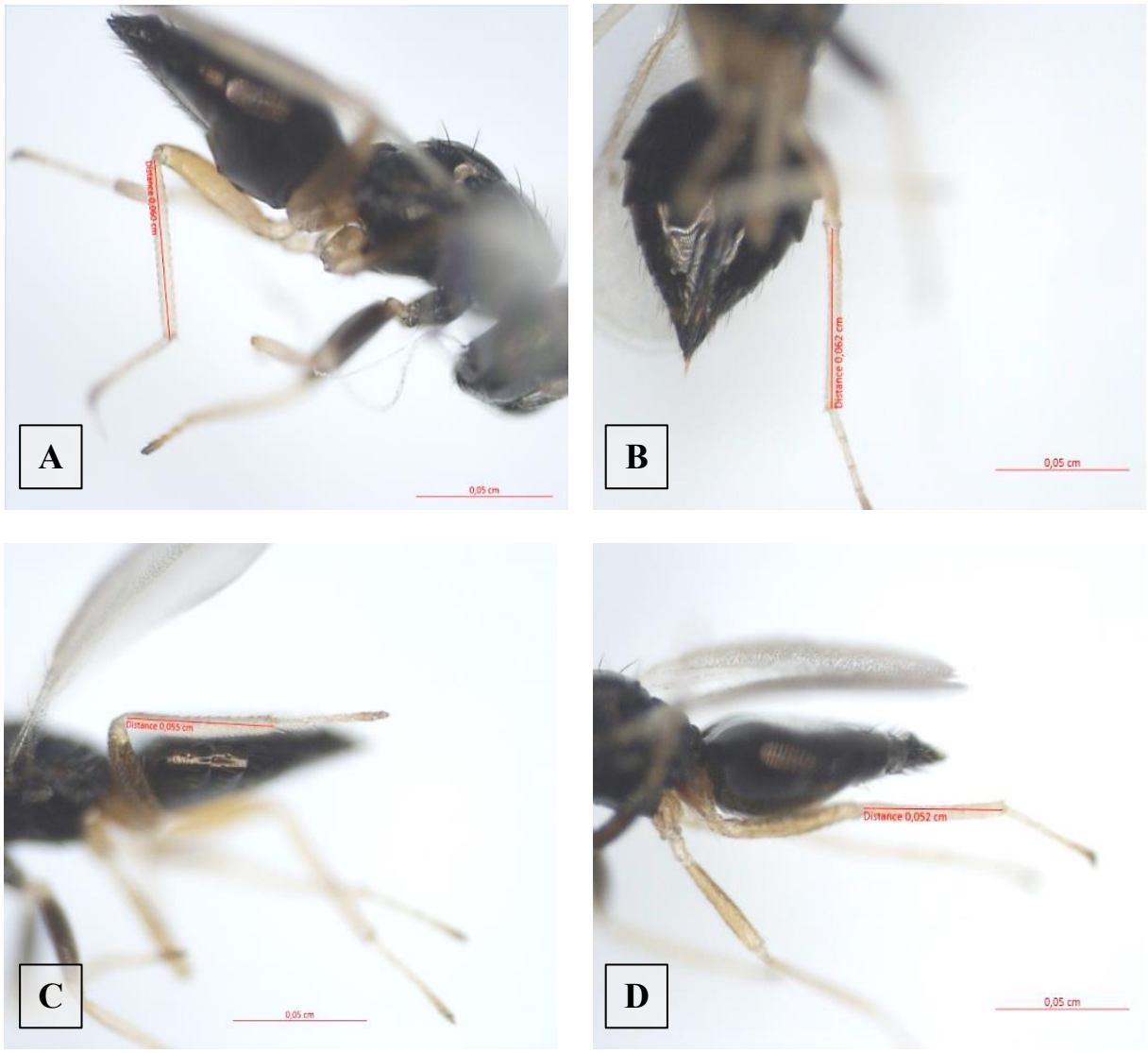
.

ANEXO 11. Adultos de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae), sob microscópio estereoscópico, na Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil



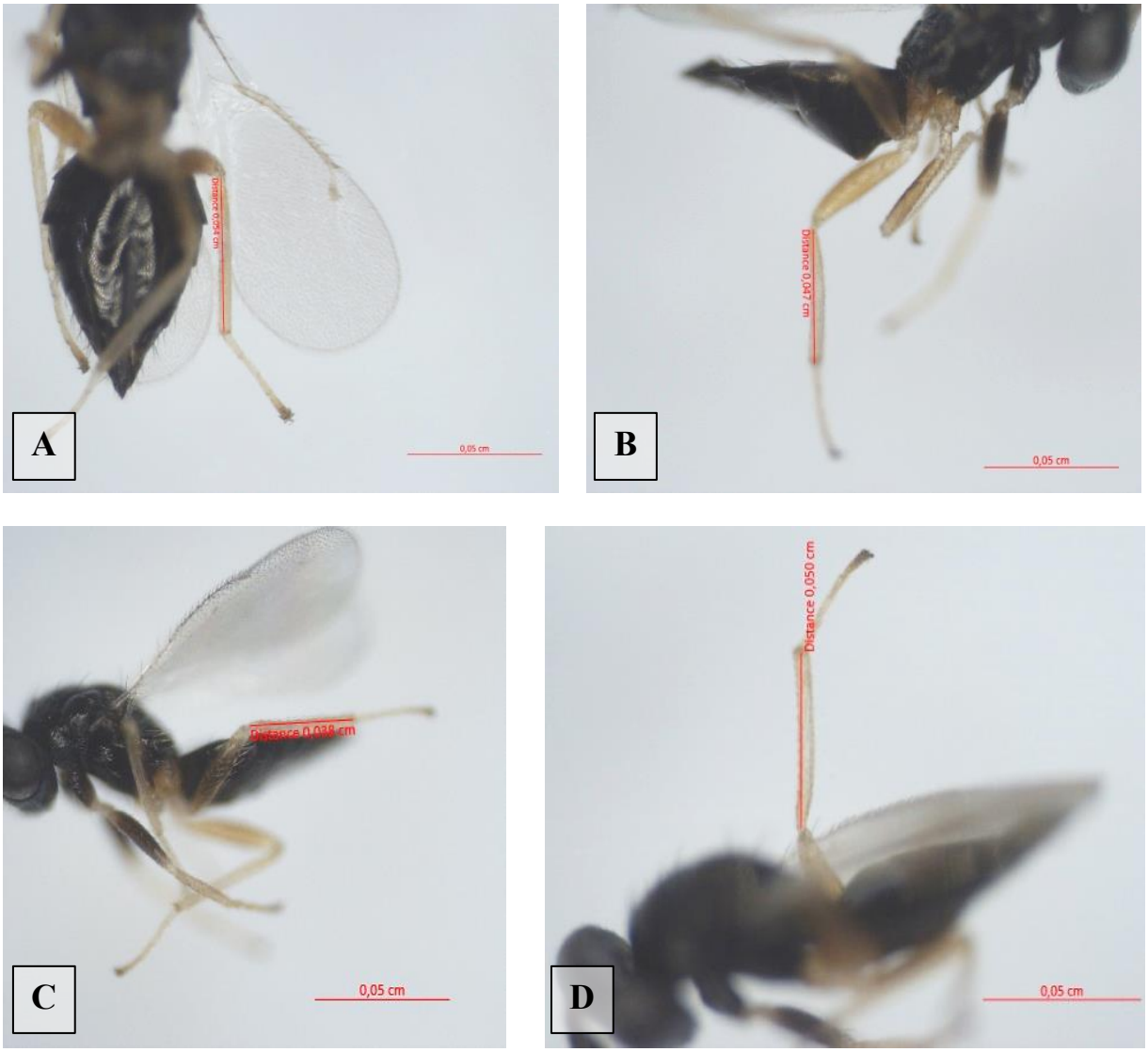
A – Macho de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae); **B** e **C** – Fêmea de *T. howardi*; **D** – Fêmea de *T. howardi* evidenciando a tíbia posterior do parasitoide.

ANEXO 12. Fêmeas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae), sob microscópio estereoscópico, com medição do comprimento de tíbia posterior**,** na Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil



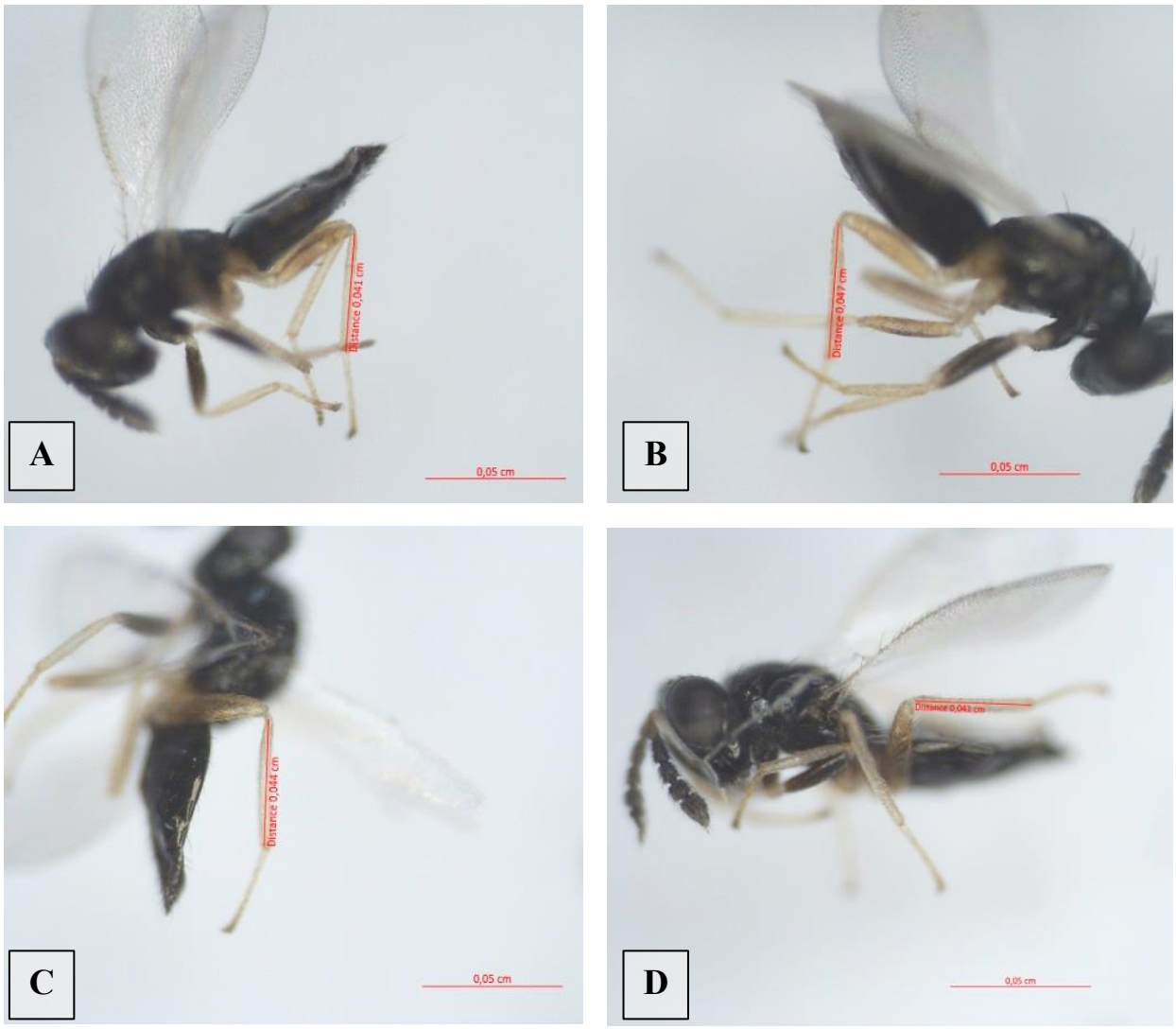
A e **B** – Fêmeas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) provenientes da densidade de 1 fêmea: pupa; **C** e **D** – Fêmeas de *T. howardi* provenientes da densidade de 5 fêmeas: pupa.

ANEXO 13. Adultos de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae), sob microscópio estereoscópico, com medição do comprimento de tíbia posterior**,** na Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil



A e **B** – Fêmeas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) provenientes da densidade de 10 fêmeas: pupa; **C** e **D** – Fêmeas de *T. howardi* provenientes da densidade de 15 fêmeas: pupa.

ANEXO 14. Adultos de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae), sob microscópio estereoscópico, com medição do comprimento de tíbia posterior**,** na Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil



A e **B** – Fêmeas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) provenientes da densidade de 20 fêmeas: pupa; **C** e **D** – Fêmeas de *T. howardi* provenientes da densidade de 25 fêmeas: pupa.