

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

**SELETIVIDADE DE INSETICIDAS A *Tetrastichus howardi*
(OLLIFF, 1893) (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) E SEU
DESENVOLVIMENTO EM PUPA DE *Chrysodeixis includens*
(WALKER, [1858]) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

MARCELO SOUSA BARBOSA

**DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2022**

**SELETIVIDADE DE INSETICIDAS A *Tetrastichus howardi*
(OLLIFF, 1893) (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) E SEU
DESENVOLVIMENTO EM PUPA DE *Chrysodeixis includens*
(WALKER, [1858]) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

MARCELO SOUSA BARBOSA

Me. Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. Fabricio Fagundes Pereira

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), para obtenção do título de Doutor em Agronomia.
Área de concentração: Produção Vegetal

**DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2022**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

B238s	<p>Barbosa, Marcelo Sousa. Seletividade de inseticidas a <i>Tetrastichus howardi</i> (OLLIFF, 1893) (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) e seu desenvolvimento em pupa de <i>Chrysodeixis includens</i> (WALKER, [1858]) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE). / Marcelo Sousa Barbosa. – Dourados, MS : UFGD, 2022.</p> <p>Orientador: Prof. Fabrício Fagundes Pereira. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal da Grande Dourados.</p> <p>1. Parasitoides de pupas. 2. Lagarta falsa-medideira. 3. Controle biológico. 4. Densidade de parasitoides. 5. Pesticidas. 6. Sistema ASPECLE. I. Título.</p>
-------	--

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.

©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.

**“SELETIVIDADE DE INSETICIDAS A *Tetrastichus howardi* (OLLIFF, 1893)
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) E SEU DESENVOLVIMENTO EM PUPA
DE *Chrysodeixis includens* (WALKER, [1858]) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)”**

por


Marcelo Sousa Barbosa

Tese apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de
DOUTORADO EM AGRONOMIA
Área de Concentração: Produção Vegetal

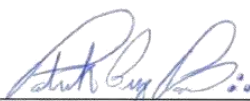
Aprovado em: 17/02/2022



Dr. Fabricio Fagundes Pereira
Orientador/Presidente - UFGD



Dra. Winnie Cezario Fernandes
Membro Titular - IDR/IAPAR



Dr. Patrik Luiz Pastori
Membro Titular - PPGAF/UFC



Dra. Ivana Fernandes da Silva
Membro Titular – PPGECEB/UFGD



Dr. José Carlos Sorgato
Membro Titular – PGAGRO/UFGD

“A persistência é o caminho do êxito”.

Charles Chaplin.

DEDICO

A Deus e a Jesus Cristo, pela força concedida de sempre seguir em frente. A todos os meus familiares, e em especial a minha mãe, Elisane Sousa Barbosa, a minha irmã, Adriana Sousa Barbosa e a minha sobrinha, Olivia Guimarães Barbosa, pela compreensão nessa jornada, auxílio e apoio em minhas escolhas e por todo o esforço, trabalho e luta que dedicaram ao meu bem e a minha educação.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, por guiar meus passos durante esta jornada, por ter me ouvido e estar sempre comigo nos momentos de dificuldades e alegrias e pela força concedida para lutar pelos meus objetivos.

Ao senhor Jesus Cristo, por sempre me guiar e interceder por mim, nos momentos aos quais me ajoelhei e me supliquei a Deus.

À Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGAGRO) pela oportunidade concedida para a realização do curso de doutorado em Agronomia.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo suporte financeiro com a concessão da bolsa de estudos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico Tecnológico (CNPq) e à Associação Sul-Mato-Grossense de Produtores e Consumidores de Florestas Plantadas (Reflore -MS), pelo suporte financeiro.

Ao Professor Dr. Fabricio Fagundes Pereira, pelas oportunidades concedidas, orientação e ensinamentos no decorrer do doutorado, por acreditar em minha capacidade, e contribuir grandemente para meu amadurecimento pessoal.

À turma do Laboratório de Controle Biológico de Insetos – LECOBIOL, companheirismo e amizade que levo por toda a minha vida. Aos que me auxiliaram durante a condução dos experimentos e no dia a dia do laboratório.

A minha mãe Elisane Sousa Barbosa e a minha irmã Adriana Sousa Barbosa, por estarem sempre ao meu lado, incentivando-me nos momentos difíceis, dando apoio e atenção e por me ajudarem a tornar o meu sonho uma realidade.

A Mariana Santana Guerra, por me incentivar sempre a alcançar meus objetivos, por toda ajuda durante a realização dos meus experimentos, pelo companheirismo, carinho, respeito e amor, que foram essenciais para essa fase de minha vida.

A todos que de alguma forma colaboram com a realização deste trabalho.

Muito Obrigado!

SUMÁRIO

	PÁGINA
RESUMO GERAL	viii
ABSTRACT	x
1 INTRODUÇÃO GERAL	1
2 REVISÃO LITERATURA	3
2.1 A cultura da soja no Brasil	3
2.2 Lagarta-falsa-medideira (<i>Chrysodeixis includens</i>)	5
2.3 Parasitoide <i>Tetrastichus howardi</i>	6
2.4 Parasitismo de <i>Tetrastichus howardi</i>	9
2.5 Inseticidas agrícolas	10
2.6 Seletividade e Sistema ASPECLE.....	12
3 OBJETIVOS	15
3.1 Objetivo Geral	15
3.2 Objetivos Específicos	15
4 HIPÓTESE (S)	16
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17
CAPÍTULO I	25
PARASITISMO DE <i>Tetrastichus howardi</i> (OLLIFF, 1893) (HYM.: EULOPHIDAE) EM PUPAS DE <i>Chrysodeixis includens</i> (WALKER, [1858]) (LEP.: NOCTUIDAE) DE DIFERENTES IDADES	25
RESUMO	25
ABSTRACT	26
1 INTRODUÇÃO	27
2 MATERIAL E MÉTODOS	29
2.1 Localização do experimento.....	29
2.2 Multiplicação de <i>Chrysodeixis includens</i>	29
2.3 Multiplicação de <i>Tetrastichus howardi</i>	30
2.4 Parasitismo e desenvolvimento de <i>Tetrastichus howardi</i> em de pupas de <i>Chrysodeixis includens</i> diferentes idades.....	31
2.5 Delineamento experimental e análises estatísticas.....	32
3 RESULTADOS	33
4 DISCUSSÃO	36
5 CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

CAPÍTULO II	45
REPRODUÇÃO DE <i>Tetrastichus howardi</i> (OLLIFF, 1893) (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EM DIFERENTES DENSIDADES EM PUPAS DE <i>Chrysodeixis includens</i> (WALKER, [1858]) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)	45
RESUMO	45
ABSTRACT	46
1 INTRODUÇÃO	47
2 MATERIAL E MÉTODOS	49
2.1 Localização do experimento.....	49
2.2 Multiplicação e manutenção de <i>Tetrastichus howardi</i>	49
2.3 Multiplicação e manutenção de <i>Chrysodeixis includens</i>	50
2.4 Parasitismo e desenvolvimento de <i>Tetrastichus howardi</i> em diferentes densidades em pupas de <i>Chrysodeixis includens</i>	51
2.5 Delineamento experimental e análises estatísticas.....	52
3 RESULTADOS	53
4 DISCUSSÃO	59
5 CONCLUSÃO	62
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
CAPÍTULO III	67
SELETIVIDADE DE INSETICIDAS A <i>Tetrastichus howardi</i> (Olliff, 1893) (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO AMPLIADO	67
RESUMO	67
ABSTRACT	68
1 INTRODUÇÃO	69
2 MATERIAL E MÉTODOS	71
2.1 Localização do experimento.....	71
2.2 Semeadura de Soja	71
2.3 Sistema ASPECLE.....	71
2.4 Inseticidas utilizados no experimento	72
2.5 Obtenção, criação e manutenção de <i>Tetrastichus howardi</i>	74
2.6 Teste de mortalidade de <i>Tetrastichus howardi</i> a inseticidas por 24 ou 168 horas utilizando o sistema ASPECLE	74
2.7 Delineamento experimental e análises estatísticas.....	75
3 RESULTADOS	76
4 DISCUSSÃO	79
5 CONCLUSÕES	81
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82

CAPÍTULO IV	85
CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DE <i>Tetrastichus howardi</i> (Olliff, 1893) (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) PUPAS DE <i>Chrysodeixis includens</i> (Walker, [1858]) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EXPOSTOS A INSETICIDAS UTILIZANDO O SISTEMA ASPECLE	85
RESUMO	85
ABSTRACT	86
1 INTRODUÇÃO	87
2 MATERIAL E MÉTODOS	89
2.1 Localização do experimento	89
2.2 Semeadura de Soja	89
2.3 Sistema ASPECLE.....	89
2.4 Inseticidas utilizados no experimento	90
2.5 Criação e manutenção de <i>Chrysodeixis includens</i>	92
2.6 Criação e manutenção de <i>Tetrastichus howardi</i>	93
2.7 Teste de parasitismo e desenvolvimento de <i>Tetrastichus howardi</i> em pupas de <i>Chrysodeixis includens</i> expostos aos resíduos de inseticidas.....	93
2.8 Delineamento experimental e análises estatísticas.....	94
3 RESULTADOS	95
4 DISCUSSÃO	100
5 CONCLUSÃO	102
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	103
CONCLUSÕES GERAIS	107
CONSIDERAÇÕES FINAIS	108
ANEXOS	109

LISTA DE FIGURAS – CAPÍTULO I

Figura 1. Parasitismo (%) de <i>Tetrastichus howardi</i> (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de <i>Chrysodeixis includens</i> (Lepidoptera: Noctuidae) em função da idade (horas) do hospederio. 25 ± 2 °C, umidade relativa de 70 ± 20% e fotoperíodo de 14h. Dourados-MS, 2021.....	33
Figura 2. Emergência (%) de <i>Tetrastichus howardi</i> (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de <i>Chrysodeixis includens</i> (Lepidoptera: Noctuidae) em função da idade (horas) do hospedeiro. 25 ± 2 °C, umidade relativa de 70 ± 20% e fotoperíodo de 14h. Dourados-MS, 2021.....	34

LISTA DE QUADRO – CAPÍTULO I

Quadro 1. Características biológicas (médias ± erro padrão) de <i>Tetrastichus howardi</i> (Hymenoptera: Eulophidae) criado em pupas de <i>Chrysodeixis includens</i> (Lepidoptera: Noctuidae) em função da idade (horas) do parasitoide. 25 ± 2 °C, umidade relativa de 70 ± 20% e fotoperíodo de 14h. Dourados-MS, 2021	35
--	----

LISTA DE FIGURAS – CAPÍTULO II

Figura 1. Parasitismo (%) de <i>Tetrastichus howardi</i> (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de <i>Chrysodeixis includens</i> (Lepidoptera: Noctuidae) em função da densidade do parasitoide. 25 ± 2 °C, umidade relativa de 70 ± 20% e fotoperíodo de 14h. Dourados-MS, 2021.....	53
Figura 2. Duração do ciclo de vida (dias) de <i>Tetrastichus howardi</i> (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de <i>Chrysodeixis includens</i> (Lepidoptera: Noctuidae) em função da densidade do parasitoide. 25 ± 2 °C, umidade relativa de 70 ± 20% e fotofase de 14h. Dourados -MS, 2021.....	54
Figura 3. Progênie por pupa de <i>Tetrastichus howardi</i> (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de <i>Chrysodeixis includens</i> (Lepidoptera: Noctuidae) em função da densidade do parasitoide. 25 ± 2 °C, umidade relativa de 70 ± 20% e fotofase de 14h. Dourados -MS, 2021.	55

Figura 4. Progenie por fêmea de <i>Tetrastichus howardi</i> (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de <i>Chrysodeixis includens</i> (Lepidoptera: Noctuidae) em função da densidade do parasitoide. 25 ± 2 °C, umidade relativa de 70 ± 20% e fotofase de 14h. Dourados -MS, 2021.	56
Figura 5. Razão sexual de <i>Tetrastichus howardi</i> (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de <i>Chrysodeixis includens</i> (Lepidoptera: Noctuidae) em função da densidade do parasitoide. 25 ± 2 °C, umidade relativa de 70 ± 20% e fotofase de 14h. Dourados -MS, 2021.	57

LISTA DE QUADRO– CAPÍTULO II

Quadro 1. Características biológicas (médias ± erro padrão) de <i>Tetrastichus howardi</i> (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de <i>Chrysodeixis includens</i> (Lepidoptera: Noctuidae) em função da densidade do parasitoide. 25 ± 2 °C, umidade relativa de 70 ± 20% e fotoperíodo de 14h. Dourados-MS, 2021	58
---	----

LISTA DE FIGURA – CAPÍTULO III

Figura 1. Sobrevivência (%) de fêmeas de <i>Tetrastichus howardi</i> exposta a resíduos de inseticidas sintéticos, biológicos e misturas de inseticidas prontas para uso, em função dos intervalos de avaliação após 168 horas de confinamento, utilizando o sistema ASPECLE. Os valores representam a média final de sobrevivência após 168h	77
--	----

LISTA DE QUADROS – CAPÍTULO III

Quadro 1. Principais inseticidas sintéticos, biológicos e misturas de inseticidas prontas para uso recomendados para o controle de <i>Chrysodeixis includens</i> na cultura da soja segundo AGROFIT (2021)	73
Quadro 2. Mortalidade corrigida (%) (média ± erro padrão) de fêmeas de <i>Tetrastichus howardi</i> (Hymenoptera: Eulophidae) expostas, por 24 horas, aos resíduos de inseticidas sintéticos, biológicos e misturas de inseticidas prontas para uso, utilizando o sistema ASPECLE. 25 ± 2°C, umidade relativa de 70 ± 20 % e fotofase de 14 horas. Dourados-MS, 2021.....	76

LISTA DE FIGURA – CAPÍTULO IV

Figura 1. Porcentagem de parasitismo e emergência (\pm EP) de *Tetrastichus howardi* em pupas de *Chrysodeixis includens*, expostos a resíduos de inseticidas sintéticos, biológicos e misturas de inseticidas prontas para uso, usando o sistema ASPECLE, no período de 24 horas. 25 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 20\%$ e fotofase de 14 horas. Dourados -MS. (*tratamentos 1- Água, 2- Acefato, 3- Metomil + Novalurom, 4- Óleo mineral, 5- *Bacillus thuringiensis*, 6- *Bacillus thuringiensis* + Óleo mineral, 7- Flubendiamida, 8- Novalurom, 9- Teflubenzurom, 10- Teflubenzurom + Óleo mineral, 11- Teflubenzurom Superdose, 12- Teflubenzurom Superdose + Óleo mineral). 95

LISTA DE QUADROS – CAPÍTULO IV

Quadro 1. Principais inseticidas sintéticos, biológicos e misturas de inseticidas prontas para uso recomendados para o controle de *Chrysodeixis includens* na cultura da soja segundo AGROFIT (2021). 91

Quadro 2. Parasitismo (%) (\pm EP) de fêmeas de *Tetrastichus howardi* sobre pupas de *Chrysodeixis includens* exposta a resíduos de inseticidas sintéticos, biológicos e misturas de inseticidas prontas para uso, usando o sistema ASPECLE, no período de 24 horas. 25 ± 2 °C, umidade relativa de 70 ± 20 % e fotoperíodo de 14 horas. Dourados-MS, 2021. 97

Quadro 3. Duração (\pm EP) do ciclo de vida, progênie, razão sexual e longevidade de fêmeas e machos, de *Tetrastichus howardi* em pupas de *Chrysodeixis includens*, exposto a resíduos de inseticidas sintéticos, biológicos e misturas de inseticidas prontas para uso, usando o sistema ASPECLE, no período de 24 horas. 25 ± 2 °C, umidade relativa de 70 ± 20 % e fotoperíodo de 14 horas. Dourados-MS, 2021. 98

SELETIVIDADE DE INSETICIDAS A *Tetrastichus howardi* (OLLIFF, 1893) (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) E SEU PARASITISMO EM PUPA DE *Chrysodeixis includens* (WALKER, [1858]) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

RESUMO GERAL

A utilização do parasitoide *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) em programas de controle biológico, é de grande notoriedade, e vem ganhando destaque através do controle de lepidópteros-praga de importantes culturas agrícolas e florestais. Entretanto, maiores estudos devem ser priorizados com esse importante agente de controle a fim de explorar ao máximo seu desempenho em novos hospedeiros. Assim, avaliamos a idade da pupa hospedeira, densidade de parasitoides exposta ao parasitismo e seletividade de inseticidas sobre o parasitismo e desenvolvimento do parasitoide *T. howardi* em pupas do hospedeiro *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae) em condições de laboratório e de semicampo (simulado). Para tanto, os experimentos foram desenvolvidos nas dependências do Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) pertencente a Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. No primeiro experimento, pupas de *C. includens* com 24, 48, 72, 96, 120, 144 ou 168 horas de idade foram expostas ao parasitismo por uma fêmea de *T. howardi* com 24 horas de idade em tubos de vidro (150 mm de comprimento x 20 mm de largura) e após 24 horas, as fêmeas de *T. howardi* foram removidas dos tubos e as pupas avaliadas até a emergência dos parasitoides. No segundo experimento, pupas de *C. includens* com até 48 horas de idade, foram expostas ao parasitismo por fêmeas de *T. howardi* na densidade de 1:1, 5:1, 10:1, 15:1, 20:1 e 25:1 (fêmeas do parasitoide: pupa), em um período de 24 horas de exposição. No terceiro experimento, fêmeas com 24 horas de idade de *T. howardi* foram submetidas a teste de mortalidade expostas a diferentes inseticidas por 24 a 168 horas utilizando o sistema ASPECLE (Avaliação da Seletividade de Pesticidas em Condições de Laboratório Estendido). No quarto e último experimento, foram realizados os testes de parasitismo e desenvolvimento de *T. howardi* em pupas de *C. includens*, onde o parasitoide e as pupas, foram expostos aos resíduos de inseticidas por 24 horas utilizando o sistema ASPECLE. Para a realização dos testes com inseticidas, utilizou-se as orientações metodológicas recomendada pela IOBC/WPRS International Organisation for Biological and Integrated Control of Integrated Control of Noxious Animals and Plants. Todos os experimentos foram conduzidos em sala climatizada com temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa de 70 ± 20 % e fotoperíodo de 14 horas. No primeiro experimento, conclui-se que as maiores taxas de parasitismo e desenvolvimento de *T. howardi* foram obtidos em pupas de *C. includens* com 24 a 96 horas, sendo esta faixa etária favorável para a criação deste parasitoide em condições de laboratório. Este é o primeiro registro de *T. howardi* se reproduzindo em pupas de *C. includens* em condições de laboratório. No segundo experimento, uma fêmea de *T. howardi* é capaz de parasitar e se desenvolver em pupa de *C. includens*, informação importante para que novos estudos sejam realizados com este parasitoide em condições de campo. De maneira geral, cinco a dez fêmeas de *T. howardi* é a densidade ideal para sua criação em pupas de *C. includens*. A conclusão do terceiro experimento foi que os inseticidas acefato e metomil + novalurom são nocivos a fêmeas adultas do parasitoide *T. howardi*, atribuindo a estes inseticidas como não seletivos, em condição simuladas de semicampo. Os inseticidas óleo mineral, *Bacillus thuringiensis*, *B. thuringiensis* + óleo mineral (0,2 %), flubendiamida,

novalurom, teflubenzurom, teflubenzurom + óleo mineral (0,5%), teflubenzurom superdose, teflubenzurom superdose + óleo mineral (0,5%), são inócuos e, portanto, seletivos a fêmeas adultas do parasitoide *T. howardi*. Conclui-se que no quarto experimento, os inseticidas acefato e metomil + novalurom interferiam negativamente nas características biológicas das fêmeas adultas de *T. howardi*, quando expostas ao parasitismo em pupas de *C. includens*, sendo atribuído a estes inseticidas como não seletivos ao parasitoide em condições de semicampo. Os inseticidas óleo mineral, *B. thuringiensis*, *B. thuringiensis* + óleo mineral (0,2 %), flubendiamida, novalurom, teflubenzurom, teflubenzurom + Óleo mineral (0,5 %), teflubenzurom superdose, teflubenzurom superdose + óleo mineral (0,5 %) não afetaram as características biológicas de fêmeas adultas de *T. howardi* quando expostas ao parasitismo em pupas de *C. includens*, sendo estes considerados seletivos ao parasitoide em condições de semicampo. Os resultados adquiridos neste trabalho fomentam o conhecimento sobre o desenvolvimento e a reprodução de *T. howardi*, apresentando resultados inéditos a respeito do parasitismo de pupas de *C. includens* por fêmeas de *T. howardi* em diferentes idades (horas) e densidade, confirmando a plasticidade e a capacidade das fêmeas de *T. howardi* em parasitar *C. includens*. Assim como a seletividade de inseticidas sobre este parasitoide, no qual permitiu determinar a inocuidade desses defensivos agrícolas em condições de laboratório ampliado.

PALAVRAS-CHAVE: Parasitoides de pupas; Lagarta-falsa-medideira; Controle biológico; Densidade de parasitoides; Pesticidas; Sistema ASPECLE.

**INSECTICIDES SELECTIVITY TO *Tetrastichus howardi* (OLLIFF, 1893)
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) AND ITS PARASITICISM IN PUPAE OF
Chrysodeixis includens (WALKER, [1858]) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

ABSTRACT

The use of the parasitoid *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) in biological control programs is of great notoriety, and has been gaining prominence through the control of lepidopteran-pests of important agricultural and forestry crops. However, further studies should be prioritized with this important control agent in order to fully explore its performance in new hosts. Thus, we evaluated the age of the host pupae, density of parasitoids exposed to parasitism and selectivity of insecticides on the parasitism and development of the parasitoid *T. howardi* in pupae of the host *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae) under conditions of laboratory and semifield (simulated). For that, the experiments were carried out in the premises of the Laboratory of Biological Control of Insects (LECOBIOL) belonging to the Federal University of Grande Dourados (UFGD) in Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil. In the first experiment, pupae of *C. includens* aged 24, 48, 72, 96, 120, 144 or 168 hours were exposed to parasitism by a female of *T. howardi* aged 24 hours in glass tubes (150 mm length x 20 mm wide) and after 24 hours, the females of *T. howardi* were removed from the tubes and the pupae evaluated until the emergence of the parasitoids. In the second experiment, pupae of *C. includens* up to 48 hours of age were exposed to parasitism by females of *T. howardi* at density of 1:1, 5:1, 10:1, 15:1, 20:1 and 25:1 (parasitoid females: pupa), in a 24 hours period of exposure. In the third experiment, 24 hours old females of *T. howardi* were submitted to a mortality test exposed to different insecticides for 24 to 168 hours using the ASPECLE system (Assessment of Pesticides Selectivity in Extended Laboratory Conditions). In the fourth and last experiment, tests of parasitism and development of *T. howardi* in pupae of *C. includens* were performed, where the parasitoid and pupae were exposed to insecticide residues for 24 hours using the ASPECLE system. To carry out the tests with insecticides, the methodological guidelines recommended by the IOBC/WPRS International Organization for Biological and Integrated Control of Integrated Control of Noxious Animals and Plants were used. All experiments were carried out in an acclimatized room with a temperature of 25 ± 2 °C, relative humidity of 70 ± 20 % and a photoperiod of 14 hours. In the first experiment, it was concluded that the highest rates of parasitism and development of *T. howardi* were obtained in pupae of *C. includens* with 24 to 96 hours, being this age group favorable for the creation of this parasitoid in laboratory conditions. This is the first record of *T. howardi* reproducing in pupae of *C. includens* under laboratory conditions. In the second experiment, a female of *T. howardi* is able to parasitize and develop into a pupa of *C. includens*, which is important information for further studies to be carried out with this parasitoid under field conditions. In general, five to ten females of *T. howardi* is the ideal density for its creation in pupae of *C. includens*. The conclusion of the third experiment was that the insecticides acephate and methomyl + novaluron are harmful to adult females of the parasitoid *T. howardi*, attributing to these insecticides as non-selective, in simulated semifield conditions. The insecticides mineral oil, *Bacillus thuringiensis*, *B. thuringiensis* + mineral oil (0.2%), flubendiamide, novaluron, teflubenzuron, teflubenzuron + mineral oil (0.5%), superdose teflubenzuron, superdose teflubenzuron + mineral oil (0.5 %), are innocuous and therefore selective for adult females of the parasitoid *T. howardi*. It is concluded that

in the fourth experiment, the insecticides acephate and methomyl + novaluron interfered negatively in the biological characteristics of adult females of *T. howardi*, when exposed to parasitism in pupae of *C. includens*, being attributed to these insecticides as non-selective to the parasitoid in semifield conditions. The insecticides mineral oil, *B. thuringiensis*, *B. thuringiensis* + mineral oil (0.2 %), flubendiamide, novalurom, teflubenzuron, teflubenzuron + mineral oil (0.5 %), superdose teflubenzuron, superdose teflubenzuron + mineral oil (0.5%). 5 %) did not affect the biological characteristics of adult females of *T. howardi* when exposed to parasitism in pupae of *C. includens*, which were considered selective for the parasitoid under semifield conditions. The results obtained in this work foster knowledge about the development and reproduction of *T. howardi*, presenting unprecedented results regarding the parasitism of *C. includens* pupae by *T. howardi* females at different ages (hours) and density, confirming the plasticity and the ability of *T. howardi* females to parasitize *C. includens*. As well as the selectivity of insecticides on this parasitoid, which allowed the determination of the innocuousness of these pesticides under expanded laboratory conditions.

KEY-WORDS: Pupal parasitoids; Soybean looper; Biological control; Parasitoid density; Pesticides; ASPECLE system.

1 INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é o maior produtor de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] do mundo, com produção de 136 milhões de toneladas do grão e com estimativa de 38.502,1 hectares de área plantada é o cereal mais consumido mundialmente. A Região Centro-Oeste brasileira se destaca como a maior produtora da leguminosa, tendo o estado de Mato Grosso do Sul como o terceiro maior produtor de soja dessa região (CONAB, 2021).

Com o aumento da área plantada de soja nos últimos anos no país e o manejo ineficaz de defensivos agrícolas e o uso intensivo de fungicidas para o controle de *Phakopsora pachyrhizi* H. Sydow & P. Sydow favoreceu o desenvolvimento de *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae), considerada uma das principais pragas da cultura da soja no Brasil (; CARVALHO et al., 2012; FIDELIS et al., 2019).

Chrysodeixis includens é uma praga polífaga, que se alimenta de diversas culturas de interesse agrícola, principalmente de soja, feijão, algodão e batata (SPECHT et al., 2015). As lagartas se alimentam das folhas, e nos primeiros instares raspa as folhas, ocasionando pequenas manchas claras; com o seu desenvolvimento, consomem as folhas, deixando apenas as nervuras, causando um aspecto rendilhado nas folhas de soja, podendo danificar hastes mais finas (HOFFMANN-CAMPO et al., 2000; SOSA-GÓMEZ et al., 2014). Durante sua fase larval, passam por seis instares de desenvolvimento e possuem dois pares de falsas pernas abdominais e se locomove de forma medindo palmo, sendo chamada de lagarta-falsa-medideira (GALLO et al., 2002; SOSA-GÓMEZ et al., 2014).

A pulverização inadequada de inseticidas pode ser altamente tóxica aos insetos-alvos e aos inimigos naturais, levando à morte diretamente através do contato com o inseticida ou de modo indireto pela atenuação da sobrevivência e da eficiência dos inimigos naturais em equilibrar as populações de insetos herbívoros (GENTZ et al., 2010; STACKE et al., 2019).

O uso de inseticidas seletivos no manejo integrado de pragas (MIP) é uma prática que favorece a preservação dos insetos benéficos presentes no agroecossistema (FOERSTER, 2002; GALVAN et al., 2006; BERSANI et al., 2020).

Os inimigos naturais são quaisquer organismos que ocorrem de forma natural no ecossistema, capazes de levarem a mortalidade biótica de outro organismo, sendo

assim denominados de agentes de controle biológico (PARRA et al., 2002; BATISTA FILHO et al., 2003; FONTES et al., 2020). Os inimigos naturais comumente encontrados e mais estudados são das ordens Hemiptera, Coleoptera, Hymenoptera, Diptera e entomopatógenos (HOFFMANN-CAMPO, 2000).

Os parasitoides são insetos com aptidão de controlar outros insetos que causam danos em culturas de interesse agrícola, regulando a densidade populacional desse inseto. Os parasitoides se desenvolvem sobre ou no interior do corpo de um hospedeiro levando à morte do inseto parasitado, e completado o seu ciclo de desenvolvimento (PARRA, 2014).

Estudos sobre os inimigos naturais estão se intensificando a cada dia. Alguns parasitoides da família Eulophidae apresentam um grande potencial para o controle de diversos lepidópteros-praga em diversas culturas como *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) e *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) (MELO et al., 2011; PEREIRA, 2016; FERNANDES, 2018; RODRIGUES et al., 2021).

A criação massal de parasitoides em condições de laboratório é de suma importância para o controle biológico de lepidópteros-praga, de modo que fatores como a porcentagem de parasitismo, porcentagem de emergência, duração do ciclo (ovo-adulto), progênie, progênie por fêmea, razão sexual do parasitoide e a longevidade de machos e fêmeas, podem ser afetados pela densidade do parasitoide, espécies do hospedeiro, período de exposição, assim como pela idade dos hospedeiros (COSTA et al., 2014; VARGAS et al., 2014; PIÑEYRO et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2018; TIAGO et al., 2019; RODRIGUES et al., 2021).

O uso incorreto de inseticidas pode levar à seleção de população de insetos resistentes, além de matar os inimigos naturais de insetos-praga (STACKE et al., 2019). Para minimizar os impactos sobre as populações dos inimigos naturais e ajudar o produtor na escolha do inseticida a ser usado, faz-se necessário testes de seletividade (PASINI et al., 2017).

Neste contexto, considerando a importância do MIP, assim como o controle biológico de insetos-praga, o objetivo desta tese foi avaliar a idade da pupa, a densidade de parasitoides, e a seletividade de inseticidas sobre o parasitismo e desenvolvimento do parasitoide *T. howardi* no hospedeiro *C. includens* em condições de laboratório e simuladas de semicampo utilizando o sistema ASPECLE.

2 REVISÃO LITERATURA

2.1 A cultura da soja no Brasil

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é originária do continente asiático, mais precisamente do norte da China, com relatos de sua domesticação no século II a.C. (HYMOWITZ, 1970). A planta é herbácea, da classe Rosidae, ordem Fabales, família Fabaceae, subfamília Papilionoideae, tribo Phaseoleae, gênero *Glycine* L., espécie *Glycine max*. Possui folhas trifolioladas, salienta caule hispido pouco ramificado, raiz com eixo principal e com várias ramificações. A fecundação é autógama, desenvolvendo vagens levemente arqueadas, e o crescimento varia em indeterminado, semideterminado ou determinado (EMBRAPA, 2021).

No Brasil, a safra de 2019/20, foi de aproximadamente 123 milhões de toneladas do grão, tendo a região Centro-Oeste como a maior área plantada, cerca de 16,67 mil toneladas ha⁻¹, e com a produção estimada da região de 58,69 milhões de toneladas, sendo a região com a maior produção de soja no Brasil, já o estado de Mato Grosso do Sul, foi responsável por cerca 10,700 milhões de toneladas de soja no país, sendo o 5º estado que mais produziu soja, ficando após Mato Grosso (35 milhões de toneladas de soja), Paraná (20,600 milhões de toneladas de soja), Rio Grande do Sul (13,100 milhões de toneladas de soja) e Goiás (12,700 milhões de toneladas de soja) (USDA, 2020).

Na safra 2020/21, a área plantada com soja alcançou 38,5 milhões de hectares, um aumento de aproximadamente 4,2% em relação à safra passada. A produtividade obteve um acréscimo de 4,4% culminando em uma produção recorde de 135,9 milhões de toneladas, tornando o Brasil o maior produtor de soja do mundo (CONAB, 2021).

No estado de Mato Grosso do Sul, a soja é de grande importância na geração de produtos, empregos e renda, no qual, servem de insumos para a indústria de transformação, que necessitam de outros setores econômicos para funcionar como o de energia e transporte, e com intensa relevância no comércio sul-matogrossense (FAGUNDES et al., 2014).

No Brasil, tem-se um pequeno nicho de produção de soja orgânica, além do cultivo de soja convencional, sendo esta produção voltada no oeste do estado do Paraná. Contudo, os produtores desta modalidade, vêm enfrentando grandes desafios de venda deste produto, apesar da soja orgânica trazer benefícios por apresentar técnicas menos

agressivas ao meio ambiente. Entretanto, esta forma de cultivo da soja não segue as normas de comercialização da bolsa de Chicago, não sendo considerada uma *commodity*. Deste modo, os agricultores de soja orgânica do oeste do estado do Paraná enfrentam dificuldades com a produção devido ao baixo consumo de produtos orgânicos pelos brasileiros, dificuldade no manejo da produção e a falta de investimentos em pesquisa direcionadas à atividade, o que dificulta a comercialização da soja orgânica (INAGAKI et al., 2018).

Apesar das dificuldades encontradas para o mercado consumidor de soja orgânica no Brasil, outros mercados consumidores como o do Japão e Europa, aumentou seu consumo de orgânicos, o que o torna um atrativo para a produção desse produto no Brasil (HIRAKURI et al., 2011).

Diversos são os desafios para que se tenha um aumento na produção de soja tanto convencional como orgânica, como uso de semente de baixa qualidade, cultivares não adaptadas às regiões, época de semeadura, tipos de solos, sistema de plantio, desequilíbrio nutricional, época de dessecação de soja, colheita em épocas chuvosas, entre diversos desafios, além dos problemas com plantas daninhas, doenças e pragas (CONAB, 2017). Dentre esses desafios, o ataque por insetos-praga pode levar a severas perdas de produção de soja (CARVALHO et al., 2012; RIBEIRO et al., 2016).

Insetos atacam a soja desde o plantio a colheita. Pragas de raízes como os corós, percevejo-castanho e cochonilha-da-raiz ocasionam danos como perda do estande de plantas. Lagartas e coleópteros provocam desfolha e conseqüentemente redução da capacidade fotossintética, levando no decréscimo de produção. Dentre as lagartas desfolhadoras da soja, destacam-se: *Anticarsia gemmatalis* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Erebididae) e *C. includens* (já para os coleópteros desfolhadores, destacam-se: *Aracanthus mourei* (Rosado Neto, 1891) (Coleoptera: Cuculionidae), *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae), *Cerotoma* sp. (Coleoptera: Chrysomelidae) e *Megascelis* sp. (Coleoptera: Chrysomelidae). Alguns insetos sugadores são responsáveis pela redução e qualidade de grãos e semente, como *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758) (Hemiptera: Pentatomidae), *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) (Hemiptera: Pentatomidae) e *Euschistus heros* (Fabricius, 1974) (Hemiptera: Pentatomidae) (HOFFMANN-CAMPO et al., 2000; HOFFMANN-CAMPO et al., 2012; SOSA-GÓMEZ et al., 2014).

Entre os métodos de controle de pragas da soja no Brasil, se destacam o controle químico, biológico, comportamental, cultural, mecânico e resistência de plantas

(BUENO et al., 2011; MARTINS; TONQUELSKI, 2015; RIBEIRO et al., 2016). A adoção do manejo integrado de pragas (MIP) é uma ferramenta importante para os produtores de soja, que resulta em uma produção econômica e sustentável, diminuindo a utilização de agrotóxicos, preservando os inimigos naturais e diminuindo a pressão de seleção dos insetos-praga (BUENO et al., 2011; CARVALHO et al., 2012).

2.2 Lagarta-falsa-medideira (*Chrysodeixis includens*)

Chrysodeixis includens pertence ao reino Animalia, filo Arthropoda, classe Insecta, ordem Lepidoptera, família Noctuidae, gênero *Chrysodeixis*, espécie *Chrysodeixis includens*. Esta lagarta é encontrada no Sul da América do Sul, ao Norte dos Estados Unidos, e no Brasil, ocorre em diversas regiões produtoras de soja, causando sérios danos de desfolhamento nesta cultura (SOSA-GÓMEZ et al., 2010).

A espécie se alimenta das folhas, porém deixam as nervuras, causando um aspecto rendilhado nas folhas de soja (HOFFMANN-CAMPO et al., 2000; SOSA-GÓMEZ et al., 2014). Trata-se de uma polífaga, capaz de se alimentar de cerca de 174 espécies de 39 famílias de plantas, principalmente das famílias botânicas Asteraceae, Solanaceae, Fabaceae, Lamiaceae, e de plantas de grande importância agrícola como soja [*Glycine max* (L.) Merrill, 1917], feijão (*Phaseolus vulgaris* Linnaeus, 1753), batata (*Solanum tuberosum* Linnaeus, 1753), amendoim (*Arachis hypogaea* Linnaeus, 1753), girassol (*Helianthus annuus* Linnaeus, 1753) e pepino (*Cucumis sativus* Linnaeus, 1753) (SPECHT et al., 2015).

Adultos de *C. includens* possuem cerca de 35 mm de envergadura das asas, sendo que asas anteriores são escuras com duas manchas prateadas na parte central do primeiro par de asas e as posteriores são de coloração marrom escura (HOFFMANN-CAMPO et al., 2012). As mariposas fêmeas vivem aproximadamente 15 dias, são capazes de depositar em torno de 600 ovos nesse período e o acasalamento das mariposas ocorrem à noite, sendo os ovos depositados individualmente na parte abaxial das folhas (HOFFMANN-CAMPO et al., 2000). Os ovos são globulares de coloração creme clara e medem cerca de 0,5 mm de diâmetro, quando próximo à eclosão das lagartas, os ovos têm cor marrom-clara, o desenvolvimento de ovo-lagarta é em torno de 2,5 dias (HOFFMANN-CAMPO et al., 2012).

Lagartas de *C. includens* apresentam coloração verde-clara, com linhas longitudinais brancas no dorso, passam por seis instares larvais, possuem dois pares de

falsas pernas abdominais por isso se movimentam como se estivessem medido palmo, sendo então chamadas de lagarta-falsa-medideira ou lagarta-mede-palmo (HOFFMANN-CAMPO et al., 2000). Nos primeiros instares larvais, apresentam coloração verde-clara, com linhas longitudinais brancas com pontuações pretas, no sexto instar larval, a lagarta tece uma teia na parte abaxial das folhas, onde se torna pupa, esta, apresentando coloração verde clara (SOSA-GÓMEZ et al., 2014).

No Brasil, *C. includens* se tornou uma das pragas primárias da cultura da soja, devido ao aumento do uso de fungicidas, principalmente para o controle do fungo *Phakopsora pachyrhizi* H. Sydow & P. Sydow causador da ferrugem asiática. Pois, o uso contínuo de fungicidas prejudica o desenvolvimento do fungo *Metarhizium rileyi* (Farlow) Kepler, S.A. Rehner & Humber, um inimigo natural de *C. includens* (SOSA-GÓMEZ et al., 2010; CARVALHO et al., 2012). Outro fator que contribui para a mudança de status da *C. includens* de praga secundária para uma das pragas primárias da cultura da soja é a dificuldade da tecnologia de aplicação de inseticidas para o controle de *C. includens*, pois esta lagarta possui como característica, permanecer na parte de baixo das folhas, concentrando-se na parte mediana da planta (CARVALHO et al., 2012; FIDELIS et al., 2019).

A adoção do MIP para controle de *C. includens* em soja é umas das alternativas para diminuir o ataque desta praga, pois a utilização de inseticidas de maneira indiscriminada leva à seleção de população de lagartas resistentes, e à diminuição da população de inimigos naturais (CARVALHO et al., 2012; STACKE et al., 2019). Vale destacar, a importância dos inimigos naturais para a regulação populacional de *C. includens*, pois são fatores fundamentais no desenvolvimento e na implementação de táticas de controle desta praga (CARVALHO et al., 2013; PEREIRA et al., 2018).

2.3 Parasitoide *Tetrastichus howardi*

Parasitoides são insetos relevantes no controle de pragas agrícolas por exercerem a função de reguladores populacionais (PARRA, 2014). Os himenópteros com aptidão de parasitar outros insetos considerados pragas no sistema agrícola, são os mais estudados, pois suas larvas desenvolvem em ovos, larvas, ninfas, pupas e adultos de outros insetos levando à sua morte no final do desenvolvimento do parasitoide (QUICKE, 2015).

A família Eulophidae é encontrada mundialmente, com aproximadamente 5000 espécies, sendo esta pertencente a superfamília Chalcidoidea da ordem Hymenoptera, subfamílias: Eulophinae, Tetrastichinae, Entedoninae e Euderinae, com destaque para Tetrastichinae sendo espécies desta subfamília consideradas relevantes no controle de uma gama de insetos-praga (GADALLAH, 2015; IEMMAA et al., 2017; FERNANDES et al., 2019).

Tetrastichus howardi é um inseto da ordem Hymenoptera, subordem Apocrita, da superfamília Chalcidoidea, família Eulophidae e subfamília Tetrastichinae. É um endoparasitoide, gregário, primário e polífago (KFIR et al., 1993). Por possuir capacidade de parasitar diversos hospedeiros como *Bombyx mori* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Bombycidae) (PIÑEIRO et al., 2016), *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), (PEREIRA et al., 2015), *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae) (TIAGO et al., 2019), *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1805) (Lepidoptera: Noctuidae) (OLIVEIRA et al., 2016), favorece a criação massal deste parasitoide em laboratório.

O adulto do parasitoide *T. howardi* apresenta cor escura, com brilho metálico, nas asas anteriores, duas setas nas veias submarginal, as fêmeas geralmente apresentam o abdome maior que dos machos. O dimorfismo sexual é bem notório, no qual as antenas das fêmeas possuem os segmentos foliculares, clava e pedicelos escuros, com três segmentos, sem placa sensorial na margem ventral, as coxas e fêmur das pernas anteriores com cor mogno. Já nos machos, suas antenas apresetam a clava escuras, o escapo com placa sensorial na margem ventral e coxas e fêmur de coloração claro (ANEXO 7) (LA SALLE; POLASZEK, 2007).

As fêmeas do parasitoide *T. howardi* introduzem dentro do seu hospedeiro uma média de 30 ovos por meio do ovipositor. Os ovos apresentam cor branco-leitoso, de 0,28 mm de comprimento x 0,08 mm largura, sendo que o tamanho dos adultos, pupas e larvas variam de acordo com a espécie parasitada. As larvas possuem três íntares, que se transformam em pupas, no qual a duração pupal varia de 8 a 9 dias, já os adultos completam seu desenvolvimento com 16 a 18 dias, a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, o tamanho das fêmeas é de 1,6 a 2,2 mm e dos machos de 1,3 a 1,8 mm de comprimento (GONZÁLEZ et al., 2003).

Originário do continente Asiático e Oceania, *T. howardi* teve seus primeiros registros na China, Austrália e Paquistão, onde foi introduzido na África para o controle de *Diatraea* spp., sendo registrado em Gana, Nigéria e África do Sul (LA SALLE; POLASZEK, 2007). *Tetrastichus howardi* foi registrado no Brasil em pupas de *Plutella*

xylostella (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) em Recife-PE (SILVA-TORRES et al., 2010), e em pupas de *D. saccharalis*, foi registrado em Sete Lagoas-MG (CRUZ et al., 2011) e em cana de açúcar em Dourados-MS (VARGAS et al., 2011).

Tetrastichus howardi possui capacidade de parasitar insetos-praga em florestas plantadas, em culturas extensivas e olerícolas (SILVA-TORRES et al., 2010; PEREIRA et al., 2015; FAVORETO et al., 2021). No eucalipto, é capaz de parasitar pupas de *Oxydia vesulia* (Cramer, 1779) (Lepidoptera: Geometridae) (FAVORETO et al., 2021). Em couve orgânica, o *T. howardi* é capaz de parasitar *P. xylostella* (SILVA-TORRES et al., 2010). Na cultura da mandioca, este parasitoide, possui potencial para parasitar pupas de *Erinnyis ello* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Sphingidae) (BARBOSA et al., 2015).

Na cultura de cana-de-açúcar, *T. howardi* parasita pupas de *D. saccharalis*, entretanto, pode parasitar larvas e pupas tendo preferência para pupas deste hospedeiro (PEREIRA et al., 2015; RODRIGUES et al., 2021). Esta capacidade de se adaptar a diversos hospedeiros ou diversas fases de desenvolvimento do hospedeiro pode estar relacionada por parasitoides do gênero *Tetrastichus* possuírem capacidade de supressão da resposta imunológica do hospedeiro (MENG et al., 2018). Quando o hospedeiro é parasitado, este é capaz de responder ao parasitismo, através do sistema imunológico, porém, os parasitoides também possuem um sistema imunológico, e são capazes de injetar toxinas modificando as respostas imunológicas do hospedeiro (LIU et al., 2018; TANG et al., 2019).

Para que o uso do controle biológico com parasitoide seja eficiente, deve ser avaliada a seletividade de inseticidas sintéticos e biológicos aos parasitoides (ROSSONI et al., 2016; PASINI et al., 2017). Já existem estudos sobre ação dos fungos entomopagênicos *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 (Cordycipitaceae) e *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff, 1879) Sorokin, 1883, sobre *T. howardi*. De acordo com os autores, estes microrganismos não comprometem os aspectos biológicos de *T. howardi* (ROSSONI et al., 2016; PASINI et al., 2017).

O conhecimento dos aspectos biológicos como duração do ciclo de ovo a adulto, progênie, razão sexual, longevidade de adultos de *T. howardi* em diversos hospedeiros em função da densidade, da idade do parasitoide e do hospedeiro são importantes para o êxito de utilização desse parasitoide em programas de controle biológico de lepidópteros-praga (BARBOSA et al., 2015; PEREIRA et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2016; FAVORETO et al., 2021).

2.4 Parasitismo de *Tetrastichus howardi*

O controle biológico aplicado vem se destacando no cenário agrícola pelo mundo todo, no qual mantém as populações de insetos-praga a níveis baixos, através da criação em massa de parasitoides e predadores em laboratório e sua liberação no campo, sendo considerado benéfico à sociedade e ao meio ambiente. O uso de produtos químicos para o controle de insetos-praga na soja, ainda é indispensável em grandes áreas, fundamentando-se o uso de parasitoides juntamente com produtos químicos para o controle dessa praga agrícolas, sendo este método essencial no MIP em soja, sobretudo ao se utilizar inseticidas seletivos aos insetos benéficos (PARRA, 2014; BORTOLOTTO et al. 2015; QUICKE, 2015; VAN LENTEREN et al. 2018; TIAGO et al., 2019).

Nesse contexto, *T. howardi* vem-se demonstrando importância econômica por controlar de forma eficiente lepidópteros-praga. Deste modo, o emprego deste inseto no controle biológico de populações de insetos-praga, vem obtendo respaldo em diversas culturas de interesse agrícola (PEREIRA et al., 2015; TIAGO et al., 2019; FAVORETO et al., 2021; RODRIGUES et al., 2021).

Estudos realizados por Rodrigues et al. (2021), demonstram a eficiência do parasitoide *T. howardi* em parasitar pupas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) e *Diatraea impersonatella* (Walker, 1863) (= *D. flavipennella*) (Lepidoptera: Crambidae), obtendo 90 % de parasitismo sobre pupas de ambas espécies no período de 24 horas de exposição, resultando em mais de 90% de descendentes fêmeas do parasitoide, demonstrando o elevado potencial de *T. howardi* em ser usado como agente de controle biológico em plantações de cana-de-açúcar.

O parasitismo de *T. howardi* em pupas de *Oxydia vesulia* (Cramer, 1779) (Lepidoptera: Geometridae), demonstrou o potencial desse inimigo natural sobre o inseto-praga pelo parasitoide, de modo, que todas as pupas desse lepidóptero-praga, foram parasitadas e apresentaram emergência do adulto de *T. howardi*, constatando sua eficiência no manejo integrado de praga desfolhadora em plantações de eucalipto (FAVORETO et al., 2021).

Estudos com o parasitoide *T. howardi* sobre a broca da cana-de-açúcar nas fases pupal e larval, demonstraram taxas de parasitismos de 68% e 56% respectivamente, com 100% de emergência em ambas as fases, sendo que a fecundidade e a razão sexual das fêmeas foram maiores nas pupas de *D. saccharalis*, evidenciando sua aptidão como inimigo natural da broca (PEREIRA et al., 2015).

A produção em massa de *T. howardi* para a liberação em grandes quantidades no campo, pode ser incrementada através da criação desse parasitoide em laboratório com hospedeiro alternativo. Estudos em condições controlada de laboratório, demonstraram a capacidade de parasitismo do parasitoide *T. howardi* sobre pupas *T. molitor*, evidenciando a viabilidade promissora desse coleóptero como hospedeiro alternativo, podendo implementar a produção em massa do parasitoide para programas de controle biológico de pragas agrícolas (TIAGO et al., 2019).

2.5 Inseticidas agrícolas

O termo inseticida é agrupado aos pesticidas, sendo definido como substância ou mistura de substâncias com aptidão de eliminar, precaver, repelir ou desestruturar qualquer praga. Os pesticidas são classificados como: inseticidas, acaricidas, fungicidas, moluscidas, algicidas, nematicidas e ovicidas, abrangendo substâncias desfolhantes, dessecantes ou reguladoras do crescimento de insetos e plantas (EPA, 2021).

Existem cinco grandes grupos de categorias dos inseticidas/acaricidas, os que agem no sistema nervoso e músculos, no crescimento e desenvolvimento do inseto, através da respiração, no intestino do inseto e um grupo de substâncias de ação desconhecida ou inespecífica (IRAC, 2021).

Dentre os inseticidas que agem sobre o sistema nervoso e músculos do inseto, destacam os organoclorados, que são moléculas derivadas de hidrocarbonetos de cloro, e algumas possuem oxigênio em sua estrutura. Esses compostos atuam por ingestão ou por contato, interferindo nos canais de sódio, alterando o equilíbrio sódio e potássio, impedindo a transmissão nervosa normal, levando à paralisia do inseto e em seguida à sua morte (MOREIRA et al., 2012).

Outros inseticidas que agem no sistema nervoso e no músculo do inseto são os organofosforados, os quais podem ser extremamente tóxicos ou apresentarem baixa toxicidade. Estes compostos atuam por contato ou por ingestão, agem como inibidores da enzima acetilcolinesterase e são responsáveis por hidrolisar o neurotransmissor acetilcolina (SANTOS et al., 2007; MOREIRA et al., 2012). Já os carbamatos, agem no sistema nervoso e no músculo do inseto, são derivados do ácido carbâmico e também são inibidores das enzimas acetilcolinesterase, porém a ligação deste inseticida a essa enzima seja mais instável (DIVITO et al., 2007; MOREIRA et al., 2012).

Piretroides são inseticidas orgânicos ou análogos sintéticos que agem nas transmissões de impulsos nervosos, tanto pela ação nos canais de sódio, causando paralisia e morte do inseto, também agem como antagonistas do GABA (Ácido gama-aminobutírico) nos receptores gabaérgicos (MOREIRA et al., 2012; DONG et al., 2014).

Os neonicotinóides são mais seletivos aos insetos e agem como agonistas dos receptores de acetilcolina, na membrana das células pós-sinápticas, promovendo a abertura dos canais de sódio, com consequente hiperatividade nervosa, seguido de colapso do sistema nervoso acarretando a morte de insetos (NAUEN et al., 2001; MOREIRA et al., 2012). Spinosinas também são mais seletivas aos insetos e o mecanismo de ação desta classe é o estímulo do receptor colinérgico, induzindo persistente ativação alostérica dos receptores nicotínicos de acetilcolina, que acarreta na morte dos insetos (MOREIRA et al., 2012).

Vírus da família Baculoviridae e bactérias entomopatogênicas do gênero *Bacillus*, possuem ação inseticida e agem no intestino do inseto. Os corpos proteicos de inclusão virais são dissolvidos no intestino e liberam virions cuja as membranas se fundem a microvilosidades do intestino; já as bactérias do gênero *Bacillus*, produzem protoxinas em formas de cristais, essas protoxinas são ativadas por proteases liberando toxinas que destroem o trato digestório e levam à suspensão da alimentação do inseto (MOREIRA et al., 2012).

Alguns inseticidas são capazes de interferir no processo de crescimento, desenvolvimento e metamorfose dos insetos, alguns desses inseticidas são análogos a hormônios de insetos, são capazes de interferir no sistema endócrino provocando retardo no desenvolvimento dos insetos, levando à morte (MOREIRA et al., 2012). Outros inseticidas não hormonais atuam sobre o exoesqueleto do inseto, interferem na síntese de quitina, e inibem o desenvolvimento do inseto (REYNOLDS, 1987; MOREIRA et al., 2012).

O uso indiscriminado de inseticidas sintéticos de amplo espectro de ação pode causar danos irreparáveis a inimigos naturais assim como a insetos polinizadores. Inseticidas imidacloprid, deltametrina e espinetoram são altamente tóxicos às abelhas nativas *Nannotrigona* sp. (PINHEIRO et al., 2020).

O uso contínuo dos mesmos ingredientes ativos e inseticidas de amplo espectro de ação pode levar à pressão de seleção sobre os insetos; desta forma faz se necessário o manejo correto de inseticidas nas áreas cultivadas (RIBEIRO et al., 2016).

A resistência de insetos a inseticidas pode ser caracterizada como resistência cruzada, onde o inseto é resistente ao mesmo mecanismo de ação, em dois ou mais inseticidas, ou pode ser caracterizada como resistência múltipla onde o inseto é resistente a dois ou mais mecanismos de ação, em dois ou mais inseticidas (PARRA et al., 2002; MOREIRA et al., 2012).

O MIP é uma ferramenta importante para diminuir o uso de inseticidas, e com isso pode diminuir os valores para a produção de determinada cultura. A constante evolução nas técnicas de manejo de pragas, e com o uso de um manejo mais aprimorado, a tendência é a diminuição do uso de produtos químicos, a maior utilização de produtos biológicos, inimigos naturais e produtos seletivos e através da otimização das tecnologias de aplicação, reduzir o desperdício de produtos químicos (BUENO et al., 2011; STABACK et al., 2020).

2.6 Seletividade e Sistema ASPECLE

A pulverização inadequada de inseticidas pode ser altamente tóxica aos insetos-alvos e aos inimigos naturais, acometendo-os diretamente através do contato com o inseticida ou de modo indireto pela atenuação da longevidade e eficiência dos inimigos naturais por meio de doses sub ou super-letais de tal modo como alterações comportamentais. Assim, o estudo da seletividade de inseticidas se faz necessário (GENTZ et al., 2010).

Define-se seletividade de inseticidas, como atributo que deliberado defensivo agrícola detém em conter os insetos-praga, com o mínimo de consequências negativas sobre os inimigos naturais (parasitoides, predadores e entomopatógenos) (DEGRANDE et al., 2002).

Nesse contexto, a procura por métodos de controle alternativos e/ou defensivos agrícolas com baixa toxicidade vem aumentando, devido a problemas de saúde pública, contaminação do meio ambiente, desequilíbrio de microrganismos e inimigos naturais. Entre esses métodos alternativos com esse propósito, estudos vêm sendo desenvolvidos através do uso de inseticidas seletivos aos inimigos naturais (CARMO et al. 2010; MARTINS et al., 2013; DIAMANTINO et al., 2014; SANOMIA et al., 2020).

A preservação dos inimigos naturais (predadores, parasitoides e entomopatógenos), no intuito de controlar naturalmente as pragas, pode ser alcançada no

manejo da resistência de pragas através da utilização da aplicação de inseticidas seletivos (MARTINS et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2019; SANOMIA et al.; 2020).

Como forma de maximizar o efeito dos inseticidas sobre as pragas, e produzir o mínimo impacto possível sobre os inimigos naturais, os testes de seletividade aos inimigos naturais podem ser de duas formas, ecológica e a fisiológica, os quais são muito importantes dentro do MIP (RIPPER et al., 1951; FOERSTER, 2002).

A compreensão da biologia dos insetos benéficos assim como dos insetos-praga, é fundamental para a execução da seletividade ecológica, sendo esta realizada pela prática da pulverização dos inseticidas e seu manejo em função da distinção do habitat e do comportamento dos insetos presentes na área, sendo a aplicação do defensivo agrícola feita somente nos locais onde se encontra a praga, possibilitando que o produto atinja somente a praga-alvo, evitando o contato do inseticida com os inimigos naturais e polinizadores (RIPPER et al., 1951; DEGRANDE et al., 2002).

A seletividade fisiológica fundamenta-se na aptidão do inseticida de conter os insetos-praga, ou seja, inerente ao produto, atuando na diferenciação da fisiologia dos parasitoides, predadores e pragas, causando o menor dano aos inimigos naturais e/ou polinizadores, sendo os insetos-praga mortos por uma determinada concentração do inseticida que não afete os insetos benéficos. Designa-se como seletividade fisiológica a atenuação ou não da absorção do inseticida pelo tegumento, ou pela degradação do sistema enzimático do inimigo natural dos compostos venenosos (PEDIGO, 1988; FOERSTER, 2002).

Dentre esses testes, tem-se o Sistema ASPECLE (Avaliação da Seletividade de Pesticidas em Condições de Laboratório Estendido) proposto por Miranda (2010), no qual cumpre o requisito de laboratório estendido (que tem como objetivo simular os danos provocados pelos inseticidas ao organismo benéfico em condições simuladas a semicampo, ao qual possui um sistema de ventilação para a eliminação de gases no interior das gaiolas de exposição através de uma bomba de vácuo aspirador/compressor, cuja função é aspirar os gases tóxicos), no qual cumpre os critérios estabelecidos pela IOBC/WPRS International Organization for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants, West Palaearctic Regional Section (HASSAN, 1992).

A IOBC regulamenta a realização dos testes de seletividade que devem ser realizados primeiramente em condições de laboratório, quando o inseticida apresenta-se inócuo, ou seja, considerado seletivo. Quando tóxico, devem ser realizados testes em condições de semi-campo; quando tóxico em condições de semi campo, devem ser

realizados testes a campo; quando inócuo em campo, pode ser considerado seletivo, em condições de campo quando o inseticida apresenta-se inócuo, este é considerado seletivo, quando tóxico é considerado não seletivo (DEGRANDE et al., 2002).

Quando os testes são realizados em condição de semi campo, as criações de insetos em laboratório devem apresentar idade uniforme, o inimigo natural tem que estar em contato com a superfície recém aplicada e seca (em torno de duas horas secando sobre o ar livre), o inseticida tem que ser pulverizado na concentração recomendada pela bula do produto a ser testado, as plantas precisam estar engaioladas, a pulverização dos inseticidas sobre as plantas deve ser realizada até o ponto de escorrimento. Necessita-se de ter duas testemunhas para comparação, sendo um controle negativo (tratado com água) e um controle positivo (padrão tóxico), o inseto a ser pesquisado deve entrar em contato com a folhagem sem interrupção por um período de exposição adequado (DEGRANDE et al., 2002).

O sistema compõe-se em grupos de gaiolas de exposição, conectados através de mangueiras a um tubo central de ventilação, no qual é ligada por uma mangueira a uma bomba de vácuo, responsável pela eliminação dos gases tóxicos contidos nas gaiolas de exposição. As extremidades das gaiolas de exposição são lacradas com tecido do tipo “voil” pressas por uma tampa de plástico, sendo que um lado da extremidade é conectado ao tubo central e a outra extremidade é usada para a introdução das folhas e dos parasitoides (Adaptado MIRANDA, 2010; SANOMIA et al., 2020).

Esse sistema otimiza a realização dos testes de seletividade, pois une as condições de laboratório e semi campo em um só teste, possibilitando expor o adulto a resíduos de inseticidas aplicados nas folhas da planta em condições laboratoriais controladas.

Em um programa de MIP tem-se uma grande importância conhecer os inseticidas seletivos aos inimigos naturais. Desta forma, ao se utilizar do controle biológico e o controle químico, deve dar preferência aos inseticidas seletivos, preservando assim os inimigos naturais presentes no ecossistema seja ele proveniente do controle biológico natural e ou aplicado.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a idade de pupas expostas ao parasitoide *Tetrastichus howardi*, a densidade de parasitoides frente ao parasitismo de pupas de *Chrysodeixis includens*, bem como a seletividade de inseticidas sobre o desenvolvimento do parasitoide *T. howardi* em pipas de *C. includens* em condições de laboratório e simulações de semicampo.

3.2 Objetivos Específicos

a) Avaliar as características biológicas de *T. howardi* em função de diferentes densidades de fêmeas do parasitoide sobre pupas de *C. includens*.

b) Avaliar as características biológicas de *T. howardi* em função de diferentes idades de pupas de *C. includens*.

c) Determinar a seletividade dos inseticidas: 1) Acefato Nortox[®]; 2) Voraz[®]; 3) Assist[®] (0,5 %); 4) Dipel WP[®]; 5) Dipel WP[®] + Assist[®] (0,2%); 6) Belt[®]; 7) Rimon[®]; 8) Nomolt[®] 150; 9) Nomolt[®] 150 + Assist[®] (0,5%); 10) Nomolt[®] 150 Superdose; 11) Nomolt[®] 150 superdose + Assist[®] (0,5%), sobre adultos de *T. howardi* utilizando o sistema ASPECLE.

d) Determinar a seletividade dos inseticidas: 1) Acefato Nortox[®]; 2) Voraz[®]; 3) Assist[®] (0,5 %); 4) Dipel WP[®]; 5) Dipel WP[®] + Assist[®] (0,2%); 6) Belt[®]; 7) Rimon[®]; 8) Nomolt[®] 150; 9) Nomolt[®] 150 + Assist[®] (0,5%); 10) Nomolt[®] 150 Superdose; 11) Nomolt[®] 150 superdose + Assist[®] (0,5%), sobre as características biológicas de *T. howardi*, expostas a pupas de *C. includens*, utilizando o sistema ASPECLE.

4 HIPÓTESE (S)

O aumento da densidade de fêmeas de *T. howardi* sobre pupas de *C. includens* compromete o parasitismo, a emergência, duração do ciclo de vida, razão sexual, longevidade de adultos desse parasitoide.

O aumento da idade de pupas de *C. includens* compromete o parasitismo, a emergência, duração do ciclo de vida, razão sexual, longevidade de adultos de *T. howardi*.

Os inseticidas Acefato Nortox[®]; Voraz[®]; Assist[®] (0,5 %); Dipel WP[®]; 5 Dipel WP[®] + Assist[®] (0,2%); Belt[®]; Rimon[®]; Nomolt[®] 150; Nomolt[®] 150 + Assist[®] (0,5%); Nomolt[®] 150 Superdose; Nomolt[®] 150 superdose + Assist[®] (0,5%) são seletivos aos adultos de *T. howardi*.

Os inseticidas Acefato Nortox[®]; Voraz[®]; Assist[®] (0,5 %); Dipel WP[®]; 5 Dipel WP[®] + Assist[®] (0,2%); Belt[®]; Rimon[®]; Nomolt[®] 150; Nomolt[®] 150 + Assist[®] (0,5%); Nomolt[®] 150 Superdose; Nomolt[®] 150 superdose + Assist[®] (0,5%) são seletivos as características biológicas de *T. howardi*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, R. H.; KASSAB, S. O.; PEREIRA, F. F.; ROSSONI, C.; COSTA, D. P.; BERNDT, M. A. Parasitismo e aspectos biológicos de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Erinnyis ello* (Lepidoptera: Sphingidae). **Ciência Rural**, v. 45, n. 2, p. 185-188, 2015.

BATISTA FILHO, A.; RAMIRO, Z. A.; ALMEIDA, J. E. M.; LEITE, L. G.; CINTRA, E. R. R.; LAMAS, C. Manejo Integrado de Pragas em soja: Impacto dos inseticidas sobre inimigos naturais. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 70, n. 1, p. 61-67, 2003.

BORTOLOTTI, O. C.; FERNANDES, A. P.; BUENO, R. C. O. F.; BUENO, A. F.; KRUIZ, Y. K. S.; QUEIROZ, A. P.; SANZOVO, A.; FERREIRA, R. B. The use of soybean integrated pest management in Brazil: a review. **Agronomy Science and Biotechnology**, v. 1, n. 1, p. 25-32, 2015.

BUENO, A. F.; BATISTELA, M. J.; BUENO, R. C. O. F.; FRANÇA-NETO, J. B.; NISHIKAWA, M. A. N.; LIBÉRIO FILHO, A. Effects of integrated pest management, biological control and prophylactic use of insecticides on the management and sustainability of soybean. **Crop Protection**, v. 30, n. 7, p. 937-945, 2011.

BERSANI, B. C. G.; SANTOS, B. S.; MASSAROLLI, A.; BUTNARIU, A. R.; PEREIRA, M. J. B.; FOERSTER, L. A. Insecticide toxicity to *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) parasitized by *Oomyzus sokolowskii* (Hymenoptera: Eulophidae). **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, Curitiba, v. 3, n. 4, p. 3604 – 3617, 2020.

CARMO, E. L.; BUENO, A. F.; BUENO, R. C. O. F.; VIEIRA, S. S.; GOULART, M. M. P.; CARNEIRO, T.R. Seletividade de produtos fitossanitários utilizados na cultura da soja para pupas de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 2, p. 283 - 290, 2010.

CARVALHO, L. C.; FERREIRA, F. M.; BUENO, N. M. Importância econômica e generalidades para o controle da lagarta falsa-medideira na cultura da soja. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 15, p. 1021-1034, 2012.

CARVALHO, M. M.; BUENO, R. C. O. F.; CARVALHO, L. C.; FAVORETO, O. L.; GODOY, A. F. Potencial do controle biológico para o controle de *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) e *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) em soja. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 17, p. 2049-2063, 2013.

CONAB, C. N. A. **Companhia Nacional de Abastecimento**. Brasília-DF: Companhia Nacional de Abastecimento, 2021. 115 p. (Boletim de Safras, 10).

CONAB, C. N. A. **Companhia Nacional de Abastecimento**. Compêndio de Estudos Conab, v. 10, p. 1-35, 2017.

COSTA, D. P.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; ROSSONI, C.; FAVERO, K.; BARBOSA, R. H. Reprodução de *Tetrastichus howardi* em pupas de *Diatraea saccharalis* de diferentes idades. **Revista de Ciências Agrárias / Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 57, n. 1, p. 67-71, 2014.

CRUZ, I.; REDOAN, A. C.; SILVA, R. B. D.; FIGUEIREDO, M. D. L. C.; PENTEADODIAS A. M. New record of *Tetrastichus howardi* (Olliff) as a parasitoid of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) on maize. **Scientia Agricola**, v. 68, n. 2, p. 252-254, 2011.

DEGRANDE, P. E.; REIS, P. R.; CARVALHO, G. A.; BELARMINO, L. C. Metodologia para avaliar o impacto de pesticidas sobre inimigos naturais. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. [eds]. **Controle Biológico no Brasil - parasitoides e predadores**. Piracicaba: Manole, p. 71-86, 2002.

DIAMANTINO, E. P.; CASTELLANI, M. A.; FORTI, L. C.; MOREIRA, A. A.; SÃO JOSÉ, A. R.; MACEDO, J. A.; OLIVEIRA, F. S.; SILVA, B. S. Seletividade de inseticidas a alguns dos inimigos naturais na cultura do algodão. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo-SP, v. 81, n. 2, p. 150-158, 2014.

DIVITO, C. B.; DAVIES, S.; MASOUDI, S.; MUHORO, C. N. Relative stability of formamidine and carbamate groups in the bifunctional pesticide formetanate hydrochloride. **Journal Agriculture Food Chemical**, v. 55, n. 14, p. 5377–5382, 2007.

DONG, K.; DU, Y.; RINKEVICH, F.; NOMURA, Y.; XU, P.; WANG, L.; SILVER, K.; ZHOROV, B. F. Molecular biology of insect sodium channels and pyrethroid resistance. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 50, n. 1, p. 1-17, 2014.

EMBRAPA, 2021. **Características da Soja**. Disponível em: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/soja/arvore/CONTAG01_24_271020069131.html. Acesso: 04 de junho de 2021.

EPA. **Basic Information About Pesticide Ingredients**, 2021. Disponível em: <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products>. Acesso: 08 de junho de 2021.

FAGUNDES, M. B. B.; DIAS, D. T.; PEREIRA, M. W. G.; FIGUEIREDO NETO, L. F.; FRAINER, D. M. Impactos da produção de soja na economia do Mato Grosso do Sul. **Revista de Política Agrícola**, v. 23, n. 4, p. 111-122, 2014.

FAVORETO, A. L.; PAVANI, R. F.; RIBEIRO, M. F.; ZANUNCIO, A. J. V.; SOARES, M. A.; ZANUNCIO, J. C.; WILCKEN, C. F. *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae): first report of parasitism in *Oxydia vesulia* (Lepidoptera: Geometridae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 81, n. 2, p. 406 – 410, 2021.

FERNANDES, W, C. **Desempenho biológico de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em lagartas, pupas e pré-pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae) em condições de laboratório e semi-campo**. 2018. Tese, Programa de Pós-graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade -UFGD, Dourados, 2018.

FERNANDES, D. R. R., QUERINO, R. B., HAMADA, N. 2019. **Keys to Neotropical Hexapoda: Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates**. Academic Press, USA, 339 – 347, 2019.

FOERSTER, L. A. Seletividade de inseticidas a predadores e parasitoides. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. [eds]. **Controle Biológico no Brasil - parasitoides e predadores**. Piracicaba: Manole, p. 95-114, 2002.

FONTES, E. M. G.; PIRES, C. S. S.; SUJII, E. R. Estratégias de uso e histórico. In: FONTES, E. M. G.; VALADARES-INGLIS, M. C. [eds]. **Controle Biológico de Pragas da Agricultura**. Brasília, DF: Embrapa, p 21-44, 2020.

FIDELIS, E. G.; NEGRINI, M.; PEREIRA, R. S. **Manejo Integrado de Lagartas-praga da Soja em Roraima**. Boa Vista: Embrapa Roraima. Boa Vista, Roraima, 2019. 11 p. (Comunicado Técnico, nº 87).

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**, v. 4058, n. 1, p. 66 -80, 2015.

GALVAN, T. L.; KOCH, R. L.; HUTCHISON, W. D. Toxicity of indoxacarb and spinosad to the multicolored Asian lady beetle, *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae), via three routes of exposure. **Pest Management Science**, Hoboken, v. 62, n. 9, p. 797-804, 2006.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIN, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 920 p. 2002.

GENTZ, M. C.; MURDOCH, G.; KING, G. F. Tandem use of selective insecticides and natural enemies for effective, reduced-risk pest management. **Biological Control**, São Paulo-SP, v. 52, n. 3, p. 208-215, 2010.

GONZÁLEZ J. F. A.; OCA, F. N. M.; RAVELO, H. G. Estudios bioecológicos de *Tetrastichus howardi* Olliff. (Hymenoptera: Eulophidae), parásito pupal de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) en Cuba. (Primera parte). **Centro Agrícola**, v. 30, n. 2, p. 37-41, 2003.

HASSAN, S. A. Guideline for the evaluation of side-effects of plant protection product on *Trichogramma cacoeciae*. In: HASSAN, S.A. **Guidelines for testing the effects of pesticides on beneficial organisms: description of test methods**. IOBC/WPRS Bulletin, p.18- 39, 1992.

HIRAKURI, M. H., OLIVEIRA A. B., TAVARES L. C. V., SEIXAS C. D. S., PASTORE, A. **Avaliação econômica do cultivo orgânico de soja no estado do Paraná para a safra 2010/11**. Londrina: Embrapa Soja. Londrina, Paraná 2011. 9 p. (Circular Técnica nº85).

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

HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORREA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. **Soja: Manejo Integrado de Insetos e Outros Artrópodes-pragas**. Brasília, DF: Embrapa, 859 p. 2012.

HYMOWITZ, T. On the domestication of the soybean. **Economic Botany**, v. 24, n. 4, p. 408-421, 1970.

IEMMAA, L. G. R.; TAVARESB, M. T.; SOUSA-SILVAA, C. R. First report of *Syrphophagus aphidivorus* (Hymenoptera: Encyrtidae) on *Aphidius ervi* in alfalfa crops in State of São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 77, n. 2, p. 422 – 423, 2017.

INAGAKI, M. N.; JUNQUEIRA, C. P.; BELLON, P. P. Desafios da produção de soja orgânica como determinante a implantação de seu cultivo para fins comerciais na região oeste do Paraná. **Revista Gestão e Sustentabilidade Ambiental**, v. 7, n. 1, p. 682-699, 2018.

IRAC- Insecticide Resistance Action Committee. **IRAC Mode of Action Classification Scheme**, p. 1-30, 2020. Disponível em: <https://www.irac-online.org>. Acesso: 14 de junho de 2021.

KFIR, R.; GOUWS, J.; MOORE, S. D. Biology of *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae): A facultative Hyperparasitoid of stem borers. **Biocontrol Science and Technology**, v. 3, n. 2, p. 149-159, 1993.

LA SALLE, J.; POLASZEK, A. Afrotropical species of the *Tetrastichus howardi* species group (Hymenoptera: Eulophidae). **African Entomology**, v. 15, n. 1, p. 45-56, 2007.

LIU, N.; XU, Z.; YAN, W.; REN, X.; ZHANG, Z.; ZHU, J. Venomics reveals novel ion transport peptide-likes (ITPLs) from the parasitoid wasp *Tetrastichus brontispae*. **Toxicon**, v. 141, n. 1, p. 88-93, 2018.

MARTINS, G. L. M.; TOMQUELSKI, G. V. Eficiência de inseticidas no controle de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura da soja. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 2, n. 4, p. 25-30, 2015.

MARTINS, G. L. M.; TOSCANO, L. C.; TOMQUELSKI, W. I. G. V.; GONZAGA, R. L. Seletividade de inseticidas sobre predadores entomófagos na cultura da soja. **Cultura Agrônômica**, Ilha Solteira – SP, v. 22, n. 2, 2013.

MELO, R. L.; PRATISSOLI, D.; POLANCZYK, R. A.; TAVARES, M.; MILANEZ, A. M.; MELO, D. F. Ocorrência de *Trichospilus diatraeae* (Hym.: Eulophidae) em brocas-das-cucurbitáceas, no Brasil. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 228-230, 2011.

MENG, E.; QIAO, T.; TANG, B.; HOU, Y.; YU, W.; CHEN, Z. Effects of ovarian fluid, venom and egg surface characteristics of *Tetrastichus brontispae* (Hymenoptera: Eulophidae) on the immune response of *Octodonta nipae* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Journal of Insect Physiology**, v. 109, n. 1, p. 125–137. 2018.

MIRANDA, G. A. S. **Padronização de metodologia para avaliar a seletividade de pesticidas sobre parasitoides de ovos**. 2010. Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) – Universidade Federal da Grande Dourados-UFGD, Dourados, 2010.

MOREIRA, M. F.; MANSUR, J. F.; MANSUR-FIGUEIRA, J. Resistência e inseticidas: estratégias, desafios e perspectivas no controle de insetos. **Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular**, Brasília: Itabajara da Silva Vaz Junior, p. 1-23, 2012.

NAUEN, R.; EBBINGHAUS-KINTSCHER, U.; ELBERT, A.; JESCHKE, P.; TIETJEN, K. Acetylcholine receptors as sites for developing neonicotinoid insecticides. In: ISHAAYA, I. (Ed.). **Biochemical sites of insecticide action and resistance**. Berlin: SPRINGER, p. 77 – 105, 2001.

OLIVEIRA, R.; SOUZA, M. S.; NUNES, G. S.; BATISTA, J. L.; BRITO, C. H. Selectivity of insecticides to *Encarsia hispida* (Hymenoptera: Aphelinidae). **Revista Caatinga**, v. 32, n. 2, p. 312-317, 2019.

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. Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) with Different Densities and Parasitism Periods in *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) Pupae. **Folia Biologica-Krakow**, v. 66, n. 3, p. 103-110, 2018.

OLIVEIRA, H. N.; SIMONATO, J.; GLAESER, D. F.; PEREIRA, F. F. Parasitism of *Helicoverpa armigera* pupae (Lepidoptera: Noctuidae) by *Tetrastichus howardi* and *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae). **Semina**, v. 37, n. 1, p. 111-115, 2016.

PARRA, J. R. P. Biological Control in Brazil: An overview. **Scientia Agricola**. v. 71, n. 5, p. 345-355, 2014.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. Controle Biológico: terminologia. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. [eds]. **Controle Biológico no Brasil - parasitoides e predadores**. Piracicaba: Manole, p. 1-13, 2002.

PASINI, R. A.; GRÜTZMACHER, A. D.; SPAGNOL, D.; ARMAS, F. S.; NORMBERG, A. V.; CARVALHO, H. J. S. Ação residual de agrotóxicos pulverizados em plantas de milho sobre *Trichogramma pretiosum*. **Revista Ceres**, v. 64, n.3, p. 242-249, 2017.

PEDIGO, L. P. **Entomology and pest management**. New York, p. 646. 1988.

PEREIRA, ELIZANGELA SOUZA. **Seletividade do inseticida deltametrina ao parasitoide *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae)**. 2016. Dissertação, Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal -UFVJM, Diamantina, 2016.

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

PEREIRA, R. R.; NEVES, D. V. C.; CAMPOS, J. N.; SANTANA JUNIOR, P. A.; HUNT, T. E.; PICANÇO, M. C. Natural biological control o *Chrysodeixis includens*. **Bulletin of Entomological Research**, v. 108, n. 6, p. 831-842, 2018.

PIÑEIRO, N. G.; PEREIRA, F. F.; BORGES, F. L. G.; ROSSONI, C.; SILVA, A. S.; KASSAB, S. O. ¿Multiplicar *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) en la oruga de la seda afecta su biología?. **Acta Biologica Colombiana**, v. 21, n. 1, p. 189-193, 2016.

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

REYNOLDS, S. E. The cuticule, growth regulators and moulting in insects: the essential background to the action of acylurea insecticides. **Pesticide Science**, v. 20, n. 2, p. 131 – 146, 1987.

RIBEIRO, F. C.; ROCHA, F. S.; ERASMO, E. A. L.; MATOS, E. P.; COSTA, S. J. Manejo com inseticidas visando o controle de percevejo marrom na soja intacta. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 3, n. 2, p. 48-53, 2016.

RIPPER, W. E.; GREENSLADE, R. M.; HARTLEY, G. S. Selective insecticides and biological control. **Journal of Economic Entomology**, v. 44, n. 4, p. 448-458, 1951.

RODRIGUES, A.; PEREIRA, F. F.; BARBOSA, P. R. R.; SILVA-TORRES, C. S. A.; TOREES, J. B. Parasitism Behavior of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on Larvae and Pupae of Sugarcane Borers. **Journal of Insect Behavior**, v. 34, n. 3, p. 1-11, 2021.

ROSSONI, C.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; RODRIGUES, A.; BARBOSA, R. H.; ZANUNCIO, J. C. Development of Eulophidae (Hymenoptera) parasitoids in *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) pupae exposed to entomopathogenic fungi. **The Canadian Entomologist**, v. 148, n. 6, p. 716-723, 2016.

SANOMIA, W. Y.; PEREIRA, F. F.; SILVA, I. F. Insecticide selectivity to *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) under extended laboratory conditions. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 50, n. 1, p. 1 – 8, 2020.

SANTOS, V. M. R.; DONNICI, C. L.; DA COSTA, J. B. N.; CAIXEIRO, J. M. R. Compostos organofosforados pentavalentes: histórico, métodos sintéticos de preparação e aplicações como inseticidas e agentes antitumorais. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 159-170, 2007.

SILVA-TORRES, C. S. A.; PONTES, I. V. A. F.; TORRES, J. B.; BARROS, R. New Records of Natural Enemies of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) in Pernambuco, Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 39, n. 5, p. 835-838, 2010.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; FERREIRA, B. S. C.; CAMPO, C. B. H.; CORSO, I. C.; OLIVEIRA, L. J.; MOSCARDI, F.; PANIZZI, A. R.; BUENO, A. F.; HIROSE, E.; ROGGIA, S. **Manual de identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja**. Paraná: Embrapa Soja, 2014. 100 p. (Documentos / Embrapa soja, 269).

SOSA-GÓMEZ, D. R.; LASTRA, C. C. L.; HUMBER, R. A. An Overview of Arthropod-Associated Fungi from Argentina and Brazil. **Mycopathologia**, v. 170, n. 1, p. 61-76, 2010.

SPECHT, A.; PAULA-MORAES, S.V.; SOSA-GÓMEZ, D. R. Host plants of *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera, Noctuidae, Plusiinae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 59, n. 4, p. 343-345, 2015.

STABACK, D.; BLANCK, P. L.; MARIUSSI, V.; GALANTE, V. A. Uso do MIP como estratégia de redução de custos na produção de soja no estado do paraná. **Raei (Paranaguá)**, v. 2, n. 1, p. 187-200, 2020.

STACKE, R. F.; GIACOMELLI, T.; BRONZATTO, E. S.; HALBERSTADT, S. A.; GARLET, C. G.; MURARO, D. S.; GUEDES, J. V. C.; BERNARDI, O. Susceptibility of Brazilian populations of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) to selected insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 112, n. 3, p. 1378-1387, 2019.

TANG, B. Z.; MENG, E.; ZANG, H. J.; ZANG, X. M.; ASGARI, S.; LIN, Y. P.; LIN, Y. Y.; PENG, Z. Q.; QIAO, T. ZHANG, X. F.; HOU, Y. M. Combination of label-free quantitative proteomics and transcriptomics reveals intraspecific venom variation between the two strains of *Tetrastichus brontispae*, a parasitoid of two invasive beetles. **Journal of Proteomics**, v. 192, n. 1, p. 37-53, 2019.

TIAGO, E. F.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; BARBOSA, R. H.; CARDOSO, C. R. G.; SANOMIA, W. Y.; PEREIRA, H. C.; SILVA, R. R. M. F.; ZANUNCIO, J. C. Biological quality of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) reared with *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) pupae after cold storage. **Florida Entomologist**, v. 102, n. 3, p. 571-576, 2019.

USDA (2020). **USDA- United States Department of Agriculture, Oilseeds and Products Annual**, GAIN- Global Agricultural Information Network. 28 p.

VAN LENTEREN, J. C.; BOLCKMANS, K.; KÖHL, J.; RAVENSBERG, W. J.; URBANEJA, A. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. **BioControl**, v. 63, n. 1, p. 39–59, 2018.

VARGAS, E. L.; PEREIRA, F. F.; CALADO, V. R. F.; GLAESER, D. F.; RODRIGUES, B. A. C.; SILVA, N. V. Densidade de fêmeas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) por pupa de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Sitientibus Série Ciências Biológicas**, v. 13, n. 1, p. 1-7, 2014.

VARGAS, E. L.; PEREIRA, F. F.; TAVARES, M. T.; PASTORI, P. L. Record of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Diatraea* sp. (Lepidoptera: Crambidae) in sugarcane crop in Brazil. **Entomotropica**, v. 26, n. 3, p. 143-146, 2011.

CAPÍTULO I

PARASITISMO DE *Tetrastichus howardi* (OLLIFF, 1893) (HYM.: EULOPHIDAE) EM PUPAS DE *Chrysodeixis includens* (WALKER, [1858]) (LEP.: NOCTUIDAE) DE DIFERENTES IDADES

RESUMO: *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) é um parasitoide de lepidópteros-praga e a idade da pupa hospedeira exerce forte influencia em sua reprodução. O objetivo foi avaliarmos as características biológicas de *T. howardi* criado em pupas de *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae) de diferentes idades. Para tanto, pupas com 24, 48, 72, 96, 120, 144 ou 168 horas de idade foram expostas ao parasitismo de uma fêmea de *T. howardi* com 24 horas de idade em tubos de vidro (150 mm de comprimento x 20 mm de largura). Após 24 horas de exposição as fêmeas de *T. howardi* foram removidas dos tubos de vidro e as pupas foram mantidas a 25 ± 2 °C, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa (UR) e fotofase de 14h até a emergência dos parasitoides. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 7 tratamentos (idade de pupas) em 10 repetições, sendo que cada repetição foi constituída por cinco pupas individualizadas com uma fêmea do parasitoide nas respectivas idades. *T. howardi* parasitou e emergiu em pupas de todas as idades avaliadas, sendo as maiores taxas obtidas, acima de 60% e 80% em pupas de 24 e 120 horas, respectivamente. A duração do ciclo (ovo-adulto) em dias; número de parasitoides emergidos por pupas (progênie); progênie por fêmea; razão sexual do parasitoide (RS= número de fêmeas / número de adultos) e a longevidade de machos e fêmeas foram semelhantes, quando este parasitoide foi criado em pupas de 24 a 168 horas. Destacamos que este é o primeiro registro de *T. howardi* se reproduzindo em pupas de *C. includens* em condições de laboratório. O maior parasitismo e desenvolvimento de *T. howardi* foi obtido em pupas de *C. includens* com 24 a 96 horas, sendo esta faixa etária favorável para a criação deste parasitoide em condições de laboratório.

Palavras-chave: Controle biológico; Parasitoides de pupas; Criação massal; Lagarta-falsa-medideira; Manejo integrado de pragas.

**PARASITISM OF *Tetrastichus howardi* (OLLIFF, 1893) (HYM.: EULOPHIDAE)
IN OF PUPAES OF *Chrysodeixis includens* (WALKER, [1858]) (LEP.:
NOCTUIDAE) OF DIFFERENT AGES**

ABSTRACT: *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) is a lepidopteran pest parasitoid and the age of the host pupa has a strong influence on its reproduction. The objective was to evaluate the biological characteristics of *T. howardi* reared in pupae of *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae) of different ages. For this purpose, pupae with 24, 48, 72, 96, 120, 144 or 168 hours of age were exposed to the parasitism of a 24 hours old female of *T. howardi* in glass tubes (150 mm long x 20 mm wide) After 24 hours of exposure, the females of *T. howardi* were removed from the glass tubes and the pupae were kept at 25 ± 2 °C, $70 \pm 10\%$ relative humidity (RH) and a photophase of 14 h until the emergence of the parasitoids. The experimental design was completely randomized, with 7 treatments (pupae age) in 10 replications, with each replication consisting of five individualized pupae with a female of the parasitoid at the respective ages. *T. howardi* parasitized and emerged in pupae of all ages evaluated, with the highest rates obtained, above 60% and 80%, in pupae of 24 and 120 hours, respectively. The duration of the cycle (egg-adult) in days; number of parasitoids emerged by pupae (progeny); progeny per female; parasitoid sex ratio (RS= number of females / number of adults) and longevity of males and females were similar when this parasitoid was reared in pupae from 24 to 168 hours. We emphasize that this is the first record of *T. howardi* reproducing in pupae of *C. includens* under laboratory conditions. The highest parasitism and development of *T. howardi* was obtained in pupae of *C. includens* with 24 to 96 hours, being this age group favorable for the creation of this parasitoid under laboratory conditions.

Key-words: Biological control; Pupal parasitoids; Mass rearing; Soybean looper; Integrated pest management.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores de grãos do mundo, sobressaindo no cenário agrícola como um dos principais países produtores de alimentos. Dentre as culturas amplamente cultivadas no país, ressalta-se a soja [*Glycine max* (L.) Merrill], como a principal leguminosa produzida, tendo o Brasil, como o maior produtor mundial (CAMPEÃO et al.; 2020 CONAB, 2021).

Dentre os diversos insetos-praga que acometem a cultura da soja, a lagarta-falsa-medideira (*Chrysodeixis includens*) (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae) se tornou uma das principais pragas da cultura. Possivelmente, esse fato seja relacionado ao uso intenso na cultura de fungicidas para o controle da ferrugem-asiática, *Phakopsora pachyrhizi* H. Sydow; P. Sydow, e pela dificuldade de controlar a praga com inseticidas, pois esta espécie, possui o hábito de permanecer na parte de abaxial das folhas, concentrando-se na parte mediana das plantas o que, dificultando na aplicação inseticidas (CARVALHO et al., 2012; FIDELIS et al., 2019).

Chrysodeixis includens é uma praga polífaga, com aptidão de se alimentar de diversas culturas. Na soja, possui grande capacidade de desfolha, alimentando do limbo foliar deixando apenas as nervuras, causando um aspecto rendilhado nas folhas, reduzindo a área foliar e prejudicando a capacidade fotossintética da planta. Afetando diretamente a produtividade. Podem também atacar as vagens já formadas, potencializando os danos e causando grandes prejuízos econômicos, principalmente se o ataque ocorrer no período reprodutivo da cultura (SOSA-GÓMEZ et al., 2014; TOMQUELSKI et al., 2015; SPECHT et al., 2015).

Entre as estratégias disponíveis de controle de *C. includens*, a utilização de inseticidas químicos é o método mais empregado, no qual, aplicado de forma incorreta ocasiona a seleção de população de insetos resistentes bem como a supressão de insetos benéficos (KORRAT et al., 2019; PERINI et al., 2019; STACKE et al., 2019). A utilização de inimigos naturais para a regulação populacional de *C. includens*, é de suma importância, pois estes insetos, são fundamentais no desenvolvimento e na implementação de táticas de controle desta praga dentro do manejo integrado de pragas (MIP) (CARVALHO et al., 2013; PEREIRA et al., 2018).

Entre os inimigos naturais utilizados no controle biológico, o parasitoide de *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae), possui a aptidão de

parasitar vários hospedeiros em diversas fases de desenvolvimento, fato no qual, pode se relacionar à resposta imunológica do parasitoide a resposta imunológica do hospedeiro (MENG et al., 2018). Quando o hospedeiro é parasitado, este é capaz de responder ao parasitismo, por meio do sistema imunológico, porém os parasitoides também possuem um sistema imunológico, e são capazes de injetar toxinas modificando as respostas imunológicas do hospedeiro (LIU et al., 2018; TANG et al., 2019).

A criação de parasitoides em condições de laboratório é de suma importância para o controle biológico, de modo que fatores como a porcentagem de parasitismo e emergência, duração do ciclo (ovo-adulto), progênie, progênie por fêmea, razão sexual e longevidade de machos e fêmeas, podem ser afetados pela espécie do hospedeiro, período de exposição, além da idade do hospedeiro (BARBOSA et al., 2015; UENO, 2015; PIÑEYRO et al., 2016; TIAGO et al., 2019; RODRIGUES et al., 2021).

Diante do exposto, nosso objetivo é avaliar o parasitismo e desenvolvimento de *T. howardi* em pupas de *C. includens* de diferentes idades.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Localização do experimento

A multiplicação dos insetos e o ensaio experimental foram conduzidos no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) (22° 11'56,56" S, 54° 56' 1,396" W) pertencente a Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) no município de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil em salas climatizadas à $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa (UR) de $70 \pm 20\%$ e fotoperíodo de 14 horas.

2.2 Multiplicação de *Chrysodeixis includens*

Inicialmente a criação de *C. includens* procedeu-se por meio da aquisição de ovos pela empresa Pragas.com. Após a eclosão das lagartas, estas foram mantidas em copos plásticos de 500 ml com o fundo revestido com dieta artificial adaptada de Greene et al. (1976) e lacrado com tampa perfurada até atingirem o 3º instar larval. Logo foram transferidas para novos copos plásticos com dieta artificial, onde estes indivíduos permaneceram nos copos até se transformarem em pupas (ANEXO 1 e 2).

As pupas foram agrupadas em 75 fêmeas e 75 machos, em potes plásticos de 300 mL com fundo forrado por papel toalha e fechado com tecido "voil", permanecendo por 6 dias no recipiente. A sexagem das pupas foi realizada sob estereomicroscópio (Motic SMZ-168).

No sétimo dia, estas pupas foram alocadas em gaiolas de tubos de PVC (25 cm de diâmetro por 30 cm de altura). O interior das gaiolas foi revestido com papel sulfite de cor rósea, e a parte superior vedada com tecido "voil" presa por gomas elásticas, sendo então sobrepostas em bandejas de plástico de cor verde claro (ANEXO 3) (Adaptado BARBOSA et al., 2018).

Copos plásticos de 50 mL com um chumaço de algodão embebido em solução aquosa de mel a 10 %, foram introduzidos no interior das gaiolas de PVC, sendo a solução utilizada como alimento para os adultos.

As gaiolas foram colocadas sobre estantes de aço sob iluminação artificial de duas lâmpadas fluorescentes dispostas paralelamente (MAXXI® F 18W T8 Rosa do tipo Gro-lux e SYLVANIA® F 20W T10 5000K Luz do Dia Plus), sendo estas ligadas a um

temporizador digital por um período de 14 horas de luz, para estimulação da cópula e da oviposição (ANEXO 4) (Adaptado MORANDO, 2014).

A oviposição das mariposas, iniciou-se a partir do quarto dia sob iluminação artificial, sendo pico atingido no sétimo dia, sendo então coletados os papéis sulfite contendo as posturas (ANEXO 5).

Os papéis foram inseridos em potes de plásticos de 7000 mL com a parte superior vedada por tecido “voil”. Após a eclosão das lagartas, estas permaneceram nos potes sendo alimentados por cubos de dieta artificial até atingirem o 3º instar. Em seguida, foram agrupadas em 100 indivíduos e transferidas para novos potes plásticos de 7000 mL, sendo mantida a alimentação a base de dieta artificial até se transformarem em pupas, reiniciando o ciclo (ANEXO 6) (Adaptado BARBOSA et al., 2018).

2.3 Multiplicação de *Tetrastichus howardi*

A produção do parasitoide *T. howardi* iniciou-se a partir de uma criação já estabelecida no LECOBIOLOG. A multiplicação constitui-se a partir de pupas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Erebiidae) com 24 horas de idade, introduzidas no interior de um tubo de ensaio (2,5 cm de diâmetro x 8,5 cm de comprimento), com cinco fêmeas de *T. howardi*, sendo vedado com porções de algodão. Uma gotícula de mel puro introduzida na parede interna dos tubos serviu como alimento para as fêmeas do parasitoides.

A determinação do sexo foi realizada de acordo com o dimorfismo das antenas de *T. howardi* no qual, antenas das fêmeas possuem três segmentos funiculares de coloração escura e escapo sem placa sensorial na margem ventral. A antena dos machos denota quatro segmentos, tendo apenas a clava de coloração escura e o escapo exibe uma placa sensorial na margem ventral (ANEXO 7) (LA SALLE; POLASZEK, 2007).

O parasitismo foi permitido por 24 horas e, após esse período, as fêmeas foram retiradas, permanecendo somente as pupas, até a emergência (cerca de 17 dias) dos novos parasitoides adultos, retomando o ciclo de criação do parasitoide (ANEXO 8).

2.4 Parasitismo e desenvolvimento de *Tetrastichus howardi* em de pupas de *Chrysodeixis includens* diferentes idades

Uma fêmea de *T. howardi*, com idade de 24 horas e previamente alimentada com mel puro, foi introduzida em tubos de vidro (150 mm de comprimento x 20 mm de largura) contendo uma pupa de *C. includens* com 24, 48, 72, 96, 120, 144 ou 168 horas de idade na densidade de 1:1 (parasitoide e pupa), sendo estes tubos vedados com algodão.

Para determinação dos sexos dos parasitoides, foi utilizado o dimorfismo das antenas de *T. howardi* (ANEXO 7) (LA SALLE; POLASZEK, 2007).

Após a exposição por 24 horas, as fêmeas de *T. howardi* foram retiradas dos tubos com o auxílio de um pincel de cerdas finas, e descartadas, enquanto as pupas foram mantidas nos tubos até a emergência dos parasitoides (Adaptado BARBOSA et al., 2015).

A porcentagem de parasitismo [(número de pupas com emergência de parasitoides + pupas sem emergência de adultos do parasitoide) / (número total de pupas) x 100], a porcentagem de emergência [(número de pupas com emergência de adultos dos parasitoides) / (número de pupas parasitadas) x 100]; a duração do ciclo (ovo-adulto) em dias; o número de parasitoides emergidos por pupa (progênie); a progênie por fêmea; a razão sexual dos parasitoides (RS= número de fêmeas / número de adultos) e a longevidade de machos e fêmeas (Adaptado Barbosa et al., 2015; TIAGO et al., 2019) foram avaliados.

A determinação da mortalidade natural de *C. includens* foi realizada alocadando-se individualmente 50 pupas em potes plásticos de 100 mL e contabilizando o número de adultos emergidos. Assim a mortalidade natural do hospedeiro foi definida pela fórmula de Abbott $Mc (\%) = (\%Mo - \%Mt) / (100 - \%Mt) \times 100$, em que Mc = mortalidade corrigida; Mo = mortalidade observada e Mt = mortalidade na testemunha (ABBOTT, 1925).

2.5 Delineamento experimental e análises estatísticas

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com sete tratamentos e dez repetições, sendo cada repetição constituída por cinco pupas individualizadas com fêmeas do parasitoide nas respectivas idades.

Os dados foram submetidos à análise de regressão a 5% de probabilidade. A escolha da equação que melhor se ajustou aos dados foi com base no coeficiente de determinação (R^2), na significância dos coeficientes de regressão (β_i) e de regressão pelo teste F (até 5% de probabilidade).

As análises foram processadas utilizando-se a versão do SigmaPlot (Copyright © 2020 Systat Software Inc, 2107 North First Street, Suite 360 San Jose, CA 95131 EUA).

3 RESULTADOS

Este é o primeiro registro de *T. howardi* se reproduzindo em pupas de *C. includens* em condições de laboratório. A porcentagem de parasitismo por fêmeas de *T. howardi* em pupas de *C. includens* em condições de laboratório, foi semelhante nas idades de 24 e 48 horas com $64,00 \pm 4,99$ e $62,00 \pm 5,54$ (%) respectivamente (Figura 1).

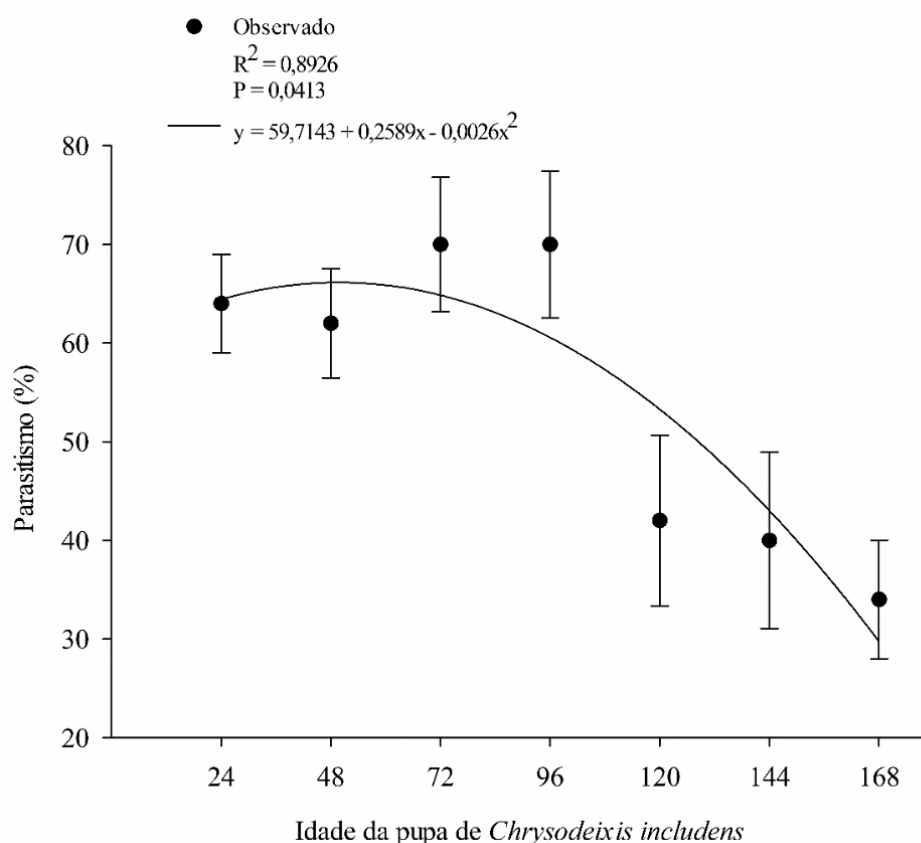


Figura 1. Parasitismo (%) de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) em função da idade (horas) do hospedeiro. 25 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 20\%$ e fotoperíodo de 14h. Dourados-MS, 2021.

O parasitismo em pupas de 72 e 96 horas foram semelhantes, com $70,00 \pm 6,83$ e $70,00 \pm 7,45$ (%). Nos tratamentos 120 e 144 horas houve uma queda na porcentagem de parasitismo com $42,00 \pm 8,67$ e $40,00 \pm 8,94$ (%). Após 168 horas de parasitismo, observou-se o decréscimo da porcentagem, com $34,00 \pm 6,00$ (%), sendo pupas com esta idade menos adequadas ao parasitismo de *T. howardi* (Figura 1).

Tetrastichus howard parasitou e se desenvolveu em pupas de *C. includens* com 24 a 96 horas de idade, reduzindo a partir da idade de 120 horas. O parasitismo foi similar entre estas diferentes idades do hospedeiro podem indicar que *T. howardi* não diferenciou pupas de *C. includens* com estas idades avançadas (Figura 1).

A porcentagem de emergência de adultos de fêmeas *T. howardi* em pupas de *C. includens*, foi análogo entre os tratamentos 24 e 48 horas, com $97,50 \pm 2,50$ (%) em ambas idades. Para a idade de 120 horas, notou-se um aumento de 100% na taxa de emergência de *T. howardi*. Enquanto que as 144 e 168 horas, a porcentagem de emergência, voltou a reduzir, no entanto, ficando acima dos 85%, com $86,67 \pm 13,33$ e $85,71 \pm 9,91$ (%) respectivamente (Figura 2).

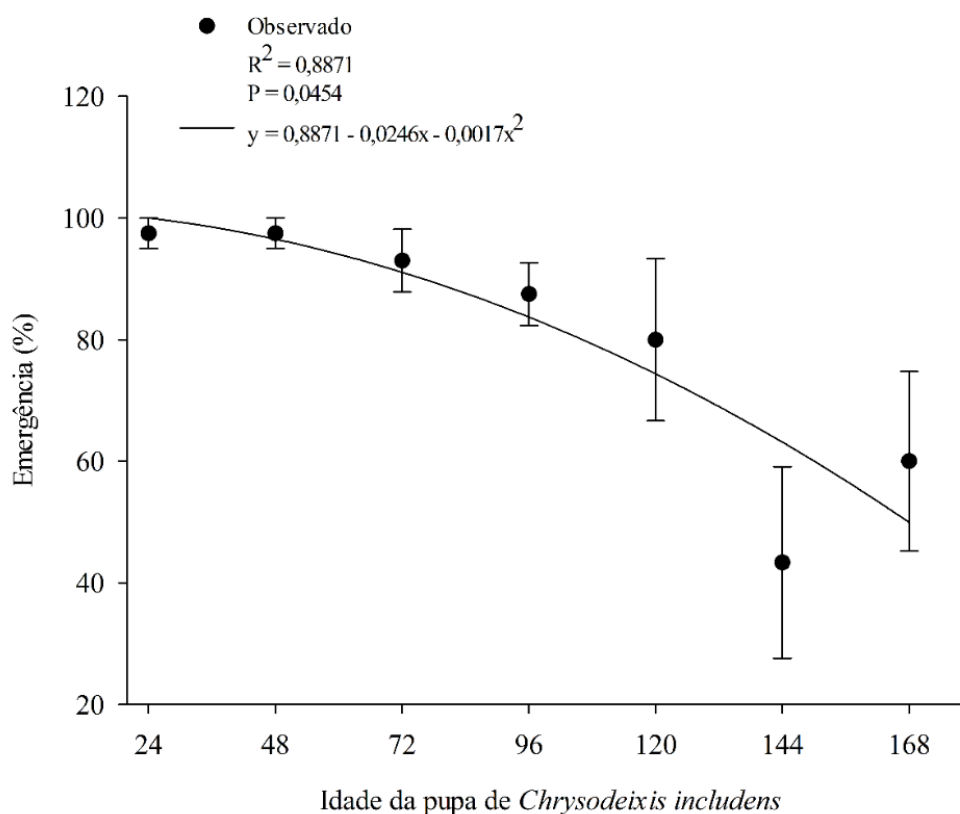


Figura 2. Emergência (%) de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) em função da idade (horas) do hospedeiro. 25 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 20\%$ e fotoperíodo de 14h. Dourados-MS, 2021.

A idade da pupa de *C. includens* não interferiu nas demais características biológicas de *T. howardi* (Quadro 1). A duração do ciclo de ovo a adulto variou de $17,29 \pm 0,07$ à $19,29 \pm 0,84$ dias; progênie por pupa variou de $62,74 \pm 7,04$ à $79,62 \pm 3,90$; a razão sexual variou de $0,88 \pm 0,06$ à $0,96 \pm 0,01$; a progênie por fêmeas variou de $60,36 \pm 3,10$ à $72,88 \pm 4,28$; a longevidade de fêmeas variou de $16,15 \pm 1,25$ à $24,10 \pm 1,21$ dias e longevidade de machos variou de $22,30 \pm 2,62$ à $33,80 \pm 2,46$ dias (Quadro 1).

Quadro 1. Características biológicas (médias \pm erro padrão) de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) criado em pupas de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) em função da idade (horas) do parasitoide. 25 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 20\%$ e fotoperíodo de 14h. Dourados-MS, 2021

Características Biológicas	Idade (horas) pupa de <i>Chrysodeixis includens</i>							
	24	48	72	96	120	144	168	
Duração do ciclo (Dias)	$18,02 \pm 0,19$	$17,29 \pm 0,07$	$17,58 \pm 0,21$	$17,77 \pm 0,21$	$19,29 \pm 0,84$	$18,00 \pm 0,49$	$19,24 \pm 0,66$	n. s
Progênie por pupa	$64,05 \pm 3,28$	$79,62 \pm 3,90$	$70,57 \pm 4,54$	$72,94 \pm 4,32$	$67,29 \pm 14,99$	$73,87 \pm 18,02$	$62,74 \pm 7,04$	n. s
Razão sexual	$0,95 \pm 0,01$	$0,92 \pm 0,04$	$0,95 \pm 0,00$	$0,95 \pm 0,01$	$0,88 \pm 0,06$	$0,87 \pm 0,04$	$0,96 \pm 0,01$	n. s
Progênie por fêmea	$60,36 \pm 3,10$	$72,88 \pm 4,28$	$67,42 \pm 4,37$	$68,67 \pm 4,35$	$69,41 \pm 14,86$	$69,33 \pm 17,69$	$60,87 \pm 8,33$	n. s
Longevidade de fêmeas (Dias)	$23,15 \pm 1,31$	$23,85 \pm 1,03$	$21,95 \pm 1,24$	$19,60 \pm 1,20$	$24,10 \pm 1,21$	$16,15 \pm 1,25$	$16,80 \pm 1,04$	n. s
Longevidade de Machos (Dias)	$22,70 \pm 2,88$	$33,80 \pm 2,46$	$23,50 \pm 1,92$	$25,20 \pm 2,61$	$30,00 \pm 2,35$	$22,30 \pm 2,62$	$26,10 \pm 2,03$	n. s

n. s = Não significativo ($p \geq 0,05$).

4 DISCUSSÃO

A produção massal de parasitoides em condições de laboratório, visando experimentos ou a liberação a campo afim de controlar populações de insetos-praga, é um obstáculo encontrado nos laboratórios de controle biológico, devido à necessidade de disponibilidade contínua do parasitoides e ao ciclo de vida desses indivíduos (PASTORI et al., 2013; PEREIRA et al., 2013).

O conhecimento a respeito das características biológicas de desenvolvimento do *T. howardi* sobre pupas de *C. includens*, como a porcentagem de parasitismo, porcentagem de emergência, duração do ciclo (ovo-adulto), progênie, progênie por fêmea, razão sexual do parasitoide e a longevidade de machos e fêmeas, é importante para o êxito em sistemas de criação e de liberação do parasitoide no campo (TIAGO et al., 2019; RODRIGUES et al., 2021).

Tetrastichus howardi é um endoparasitoide de pupas, e seu sucesso reprodutivo ocorre em pupas com idades (horas) menores (COSTA et al., 2014; TIAGO et al., 2019). Este fato pode estar direcionado à competência do mecanismo de defesa celular do hospedeiro por meio da encapsulação do corpo invasor (HEGAZI; KHAFAGI, 2008). O mecanismo de defesa imunológica dos hospedeiros contra os parasitoides e patógenos dispõem de dois componentes sendo por meio das reações celulares, constituído pelos hemócitos e um componente humoral. Ambos os componentes estão correlacionados, no qual os hemócitos produzem fatores humorais, sendo estes interligados nas ações de defesa das células dos hemócitos (TANADA; KAYA, 1993; NIERE et al., 1999; NEGREIRO et al., 2004; ANDRADE et al., 2010; MOREAU; ASGARI, 2015).

Os hemócitos são células circulares encontradas na hemolinfa dos insetos que atuam na defesa imunológica por meio da fagocitose, formação de nódulos e encapsulação, enquanto que a defesa humoral, está envolvida na atividade de peptídeos antimicrobianos e na ação enzimática que atua na melanização da hemolinfa ou coagulação (LAVINE; STRAND, 2002; CARTON et al., 2008; CERENIUS et al., 2008; MOREAU; ASGARI, 2015). A escolha do hospedeiro é de grande importância para a multiplicação do parasitoide em condições de laboratório, pois, minimiza os gastos para a criação e o período de liberação a campo do parasitoide (COSTA et al., 2014; DA SILVA et al., 2020).

Tetrastichus howardi parasitou e emergiu de pupas de *C. includens* em todos os tratamentos, demonstrando potencial para produção massal em laboratório. Os resultados obtidos de porcentagem de emergência indicam a capacidade biológica desse parasitoide, sendo os imaturos capazes de explorar os recursos nutricionais disponíveis nas pupas de *C. includens*. Estudos voltados para avaliar as características biológicas de *T. howardi*, em pupas de *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Linnaeus) (Coleoptera: Tenebrionidae), comprovaram a capacidade de parasitismo de *T. howardi* sobre este hospedeiro, assim como a porcentagem de emergência, que em condições à 25 ± 2 °C foram de 100,00% em ambas características biológicas, sendo este último inseto, também considerado uma opção viável para criação massal do parasitoide em laboratório (TIAGO et al., 2019).

Os insetos hospedeiros possuem sistema imune de defesa contra seus inimigos naturais, sendo este fato o essencial gerador da mortalidade de imaturos do parasitoide. O parasitismo pode acarretar na ativação imediata do sistema de defesa do hospedeiro, através da secreção de hemócitos que promovem a encapsulação. No entanto, o parasitoide consegue responder ao sistema de defesa do hospedeiro por meio de estratégias como a inoculação de veneno, uma maior quantidade de vírus e polidnavírus na hemolinfa do inseto juntamente com os ovos durante a oviposição (CARTON et al., 2008; ANDRADE et al., 2010; MOREAU; ASGARI, 2015).

Estudos direcionados à quebra da imunidade de pupas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Erebididae) por meio do parasitismo de *Palmistichus elaeisis* Delvare e LaSalle, 1993 e *Trichospilus diatraeae* Cherian e Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) demonstraram que durante a oviposição os parasitoides injetam substância venenosa, provocando modificações nos hemócitos circulares da pupa apontando que esta é uma via comum para a imunossupressão do hospedeiro (ANDRADE et al., 2010).

O restringimento da quantidade de hemócitos circulares do hospedeiro, auxilia no aprimoramento da fase imatura dos parasitoides, interferindo na resposta imune do hospedeiro interrompendo a produção de componentes humoral (espécies reativas intermediárias de oxigênio, nitrogênio e melanina) (CARTON et al., 2008; ANDRADE et al., 2010; MOREAU; ASGARI, 2015).

T. howardi demonstrou plasticidade em parasitar pupas de *C. includens*, interferindo na quebra da imunidade e restringindo a quantidade de hemócitos circulares do hospedeiro.

A criação de *T. howardi*, em pupas de *C. includens*, demonstrou que o hospedeiro é viável para a multiplicação em massa do parasitoide em condições de laboratório. Ao avaliar a eficiência da criação em massa do parasitoide *T. howardi* em pupas de *Bombyx mori* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Bombycidae), observou-se que as características biológicas de *T. howardi* foram favoráveis na criação deste hospedeiro alternativo (PIÑEYRO et al., 2016).

Dentre as características biológicas avaliadas nesse experimento, a produção da progênie por pupa e progênie por fêmea, apresentaram médias estatísticas em todas as idades (horas) avaliadas. O sucesso de novos descendentes dos parasitoides está ligada à cópula dos machos com as fêmeas nas primeiras horas após a emergência, sendo as fêmeas encarregadas pelo parasitismo e pela progênie por pupa e por fêmea (AMALIN et al., 2005; SANOMIA et al., 2020).

A razão sexual de *T. howardi* foi equivalente em ambas as idades de pupas avaliadas. O índice da razão sexual ideal de qualidade para a multiplicação em massa do parasitoide, é igual ou superior a 0,5 (DA SILVA et al., 2008). Índices superiores a 0,9%, foram observados quando *T. howardi* foi criado em pupas de *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1805) (Lepidoptera: Noctuidae) (OLIVEIRA et al., 2016). Os parasitoides machos desempenham a função de fertilizar as fêmeas, não parasitam os insetos-praga e desta forma, não cooperam para a redução deste, sendo então que a razão sexual alta, ou seja, a emergência de maior número de fêmeas, pode favorecer os programas de controle biológico (NAVARRO, 1998).

A duração do ciclo de vida (ovo a adulto) de *T. howardi* foi análogo em todas as idades avaliadas, sugerindo que as pupas do hospedeiro *C. includens* são viáveis para o desenvolvimento do parasitoide. Estudos com o parasitoide *T. howardi*, demonstraram que a duração do ciclo de vida desse parasitoide em pupas de *B. mori* foi acima de 17 dias (BARBOSA et al., 2015; PIÑEYRO et al., 2016). A duração do ciclo de vida (ovo a adulto), depende de diversos aspectos, assim como da espécie do hospedeiro (ZAGO et al., 2006).

A longevidade de machos e fêmeas do parasitoide foi semelhante em todas as idades (horas) de pupa de *C. includens*, sendo que a dos machos foi superior. A função dos parasitoides machos, é fazer a cópula nas primeiras horas de vida após sua emergência, sendo que a longevidade superior a 10 dias é um período suficiente para que as fêmeas do parasitoides consigam se reproduzir e encontrar seus hospedeiros, quando forem liberados a campo (PRATISSOLI et al., 2005).

De modo geral, *T. howardi* em pupas de *C. includens* de diferentes idades, não afetou o parasitismo e o desenvolvimento do parasitoide. A influência da idade de pupas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) sobre o parasitismo e o desenvolvimento de *T. howardi*, não afetou a capacidade do parasitoide em parasitar pupas de idades diferentes (24 a 120 horas) (COSTA et al., 2014).

O sucesso do parasitismo nas primeiras horas de desenvolvimento do estágio pupal está ligado à ocorrência da modificação fisiológica do hospedeiro durante a histólise (deterioração e dissolução dos tecidos orgânicos) para o desenvolvimento dos distintos tecidos embrionários durante a histogênese (ANDRADE et al., 2010; COSTA et al., 2014).

A capacidade de parasitismo e o desenvolvimento de *T. howardi* em pupas de diferentes idades é de grande significância, pois concede um período maior de utilização do hospedeiro para a criação em massa do parasitoide, assim como em experimento em laboratório e a campo e em programas de controle biológico, reduzindo custos de produção, devido serem usadas pupas com idades de até 48 horas para criação de parasitoides (COSTA et al., 2014).

O parasitismo e o desenvolvimento de *T. howardi* em diferentes idades do hospedeiro (pupas) demonstraram a capacidade e o potencial desse inimigo natural para se multiplicar com qualidade em pupas de *C. includens*, proporcionando uma criação massal satisfatória em condições de laboratório.

5 CONCLUSÃO

O maior parasitismo e desenvolvimento de *T. howardi* foi obtido em pupas de *C. includens* com idades de 24 a 96 horas, sendo esta faixa etária favorável para a criação deste parasitoide em condições de laboratório.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal Economy Entomology**, v. 18, n. 2, p. 265-267, 1925.
- AMALIN, D. M.; PENA, J. E.; DUNCAN, R. E. Effects of host age female parasitoid age and host plant on parasitism of *Ceratogramma etiennei* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Florida Entomological**, v. 88, n. 1, p. 77-82, 2005.
- ANDRADE, G. S.; SERRAO, J. E.; ZANUNCIO, J. C.; ZANUNCIO, T. V.; LEITE, G. L. D.; POLANCZYK, R. A. Immunity of an alternative host can be overcome by higher densities of its parasitoids *Palmistichus elaeisis* and *Trichospilus diatraeae*. **Plos One**, v. 5, n. 10, p. 1 – 7, 2010.
- BARBOSA, M. S.; DIAS, B. B.; SANTANA, M. S.; VIEIRA, G. H. C.; Applying plant oils to control fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in corn. **Australian Journal of Crop Science**, Australia-AUS, v. 12, n. 4, p. 557-562, 2018.
- BARBOSA, R. H.; KASSAB, S. O.; PEREIRA, F. F.; ROSSONI, C.; COSTA, D. P.; BERNDT, M. A. Parasitismo e aspectos biológicos de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Erinnyis ello* (Lepidoptera: Sphingidae). **Ciência Rural**, v. 45, n. 2, p. 185-188, 2015.
- CARVALHO, M. M.; BUENO, R. C. O. F.; CARVALHO, L. C.; FAVORETO, O. L.; GODOY, A. F. Potencial do controle biológico para o controle de *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) e *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) em soja. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 17, p. 2049-2063, 2013.
- CARVALHO, L. C.; FERREIRA, F. M.; BUENO, N. M. Importância econômica e generalidades para o controle da lagarta falsa-medideira na cultura da soja. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 15, p. 1021-1034, 2012.
- CARTON, Y.; POIRIÉ, M.; NAPPI, A. J. Insect immune resistance to parasitoids. **Insect Science**, v.15, n. 1, p. 67-87, 2008.
- CAMPEÃO, P.; SANCHES, A. C.; MACIEL, W. R. E. Mercado Internacional de Commodities Uma Análise da Participação do Brasil no Mercado Mundial de Soja entre 2008 e 2019. **Revista Desenvolvimento em Questão**, v.18, n. 51, p. 76-92, 2020.
- CERENIUS, L.; LEE, B. L.; SÖDERHÄLL, K. The proPO-system: pros and cons for its role in invertebrate immunity. **Trends in Immunology**, v. 29, n. 6, p. 263-71, 2008.
- CONAB, C. N. A. **Companhia Nacional de Abastecimento**. Brasília-DF: Companhia Nacional de Abastecimento, 2021. 115 p. (Boletim de Safras, 8).

COSTA, D. P.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; ROSSONI, C.; FAVERO, K.; BARBOSA, R. H. Reprodução de *Tetrastichus howardi* em pupas de *Diatraea saccharalis* de diferentes idades. **Revista de Ciências Agrárias / Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 57, n. 1, p. 67-71, 2014.

DA SILVA, R. G., PLATA-RUEDA, A.; MARTÍNEZ, L. C.; RIBEIRO, G. T.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C. Side effects of *Bacillus thuringiensis* on the parasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 189, n. 1, p. 109978, 2020.

DA SILVA, N. D.; PARRA, J. R. P.; DA COSTA, T. C. L. Seleção de hospedeiro alternativo para três espécies de tricogramatídeos neotropicais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 11, p. 1467-1473, 2008.

GREENE, G. L.; LEPPLA, N. C.; DICKERSON, W. A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial médium. **Journal Economy Entomology**, v. 69, n. 4, p. 487-488, 1976.

HEGAZI, E.; W. KHAFAGI. The effects of host age and superparasitism by the parasitoid, *Microplitis rufiventris* on the cellular and humoral immune response of *Spodoptera littoralis* larvae. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 98, n. 1, p. 79-84, 2008.

FIDELIS, E. G.; NEGRINI, M.; PEREIRA, R. S. **Manejo Integrado de Lagartas-praga da Soja em Roraima**. Boa Vista: Embrapa Roraima. Boa Vista, Roraima 2019. 11p. (Comunicado Técnico, n°87).

KORRAT, R. A. A.; AHMED, S. A.; BADR, N. F. The Potential Side Effects of Certain Insecticide Formulations on the Green Lacewing, *Chrysoperla carnea* (Stephens). **Journal of Plant Protection and Pathology**, v.10, n. 12, p. 605 - 612, 2019.

LA SALLE, J.; POLASZEK, A. Afrotropical species of the *Tetrastichus howardi* species group (Hymenoptera: Eulophidae). **African Entomology**, v. 15, n. 1, p. 45 - 56, 2007.

LAVINE, M. D; STRAND, M. R. Insect hemocytes and their role in immunity. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 32, n. 10, p. 1295 - 1309, 2002.

LIU, N.; XU, Z.; YAN, W.; REN, X.; ZHANG, Z.; ZHU, J. Venomics reveals novel ion transport peptide-likes (ITPLs) from the parasitoid wasp *Tetrastichus brontispae*. **Toxicon**, v. 141, n. 1, p. 88-93, 2018.

MOREAU, S.; ASGARI, S. Venom Proteins from Parasitoid Wasps and Their Biological Functions. **Toxins**, v. 7, n. 7, p. 2385- 2412, 2015.

MORANDO, R. **Resistência de genótipos de feijoeiro a *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: noctuidae)**. 2014. 81p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônômicas-UNESP, 2014.

MENG, E.; QIAO, T.; TANG, B.; HOU, Y.; YU, W.; CHEN, Z. Effects of ovarian fluid, venom and egg surface characteristics of *Tetrastichus brontispae* (Hymenoptera: Eulophidae) on the immune response of *Octodonta nipae* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Journal of Insect Physiology**, v. 109, n. 1, p. 125 – 137, 2018.

NAVARRO, M.A. *Trichogramma* spp. **procucción, uso y manejo en Colombia**. Guadalajara de Buga: Impretec, 176 p. 1998.

OLIVEIRA, H. N.; SIMONATO, J.; GLAESER, D. F.; PEREIRA, F. F. Parasitism of *Helicoverpa armigera* pupae (Lepidoptera: Noctuidae) by *Tetrastichus howardi* and *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae). **Semina**, v. 37, n. 1, p. 111-115, 2016.

PASTORI, P. L.; ZANUNCIO, J. C.; PEREIRA, F. F.; PRATISSOLI, D.; CECON, P. R.; SERRÃO, J. E. Temperatura e tempo de refrigeração de pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) afetam parâmetros biológicos de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 4, p. 1493 – 1508, 2013.

PERINI, C. R.; ARNEMANN, J. A.; CAVALLIN, L. D. A.; GUEDES, G. A.; MARQUES, R. P.; VALMORBIDA, I.; SILVA, K. D.; FELTRIN, N. M.; PUNTEL, L.; FROELICH, R.; GUEDES, J. V. C. Challenges in chemical management of soybean looper (*Chrysodeixis includens*) using several insecticides. **Australian Journal of Crop Science**, v. 13, n. 10, p. 1723 – 1730, 2019.

PEREIRA, R. R.; NEVES, D. V. C.; CAMPOS, J. N.; SANTANA JUNIOR, P. A.; HUNT, T. E.; PIKANÇO, M. C. Natural biological control *Chrysodeixis includens*. **Bulletin of Entomological Research**, v. 108, n. 6, p. 831 - 842, 2018.

PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; KASSAB, S. O.; PASTORI, P. L.; BARBOSA, R. H.; ROSSONI, C. Biological characteristics of *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) on refrigerated pupae of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 73, n. 2, p. 117–121, 2013.

PIÑEYRO, N. G.; PEREIRA F. F.; BORGES, F. L. G.; ROSSONI, C.; SILVA, A. S.; KASSAB S. O. ¿Multiplicar *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) en la oruga de la seda afecta su biología?. **Acta Biológica**, v. 21, n. 1, p. 189-193, 2016.

PRATISSOLI, D.; ZANUNCIO, J. C.; VIANNA, U. R.; ANDRADE, J. S.; PINON, T. B. M.; ANDRADE, G. S. Thermal requirements *Trichogramma pretiosum* and *T. acacioi* (Hym.: Trichogrammatidae), parasitoids of the avocado defoliator *Nipteria panacea* (Lep.: Geometridae), in eggs of two alternative hosts. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, n. 4, p. 523–529, 2005.

RODRIGUES, A.; PEREIRA, F. F.; BARBOSA, P. R. R.; SILVA-TORRES, C. S. A.; TOREES, J. B. Parasitism Behavior of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on Larvae and Pupae of Sugarcane Borers. **Journal of Insect Behavior**, v. 34, n. 3, p. 1-11, 2021.

SANOMIA, W. Y.; PEREIRA, F. F.; SILVA, I. F. Insecticide selectivity to *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) under extended laboratory conditions. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 50, n. 1, p. 1 – 8, 2020.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; FERREIRA, B. S. C.; CAMPO, C. B. H.; CORSO, I. C.; OLIVEIRA, L. J.; MOSCARDI, F.; PANIZZI, A. R.; BUENO, A. F.; HIROSE, E.; ROGGIA, S. **Manual de identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja**. Paraná: Embrapa Soja, 2014. 100 p. (Documentos / Embrapa soja, 269).

SPECHT, A.; PAULA-MORAES, S.V.; SOSA-GÓMEZ, D. R. Host plants of *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera, Noctuidae, Plusiinae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 59, n. 4, p. 343-345, 2015.

STACKE, R. F.; GIACOMELLI, T.; BRONZATTO, E. S.; HALBERSTADT, S. A.; GARLET, C. G.; MURARO, D. S.; GUEDES, J. V. C.; BERNARDI, O. Susceptibility of Brazilian populations of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) to selected insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 112, n. 3, p. 1378-1387, 2019.

TANG, B. Z.; MENG, E.; ZANG, H. J.; ZANG, X. M.; ASGARI, S.; LIN, Y. P.; LIN, Y. Y.; PENG, Z. Q.; QIAO, T. ZHANG, X. F.; HOU, Y. M. Combination of label-free quantitative proteomics and transcriptomics reveals intraspecific venom variation between the two strains of *Tetrastichus brontispae*, a parasitoid of two invasive beetles. **Journal of Proteomics**, v. 192, n. 1, p. 37 - 53, 2019.

TIAGO, E. F.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; BARBOSA, R. H.; CARDOSO, C. R. G.; SANOMIA, W. Y.; PEREIRA, H. C.; SILVA, R. R. M. F.; ZANUNCIO, J. C. Biological quality of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) reared with *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) pupae after cold storage. **Florida Entomologist**, v. 102, n. 3, p. 571 - 576, 2019.

TOMQUELSKI, G.V.; MARTINS, G. L. M.; DIAS, T. S. Características e manejo de pragas da cultura da soja. **Pesquisa, Tecnologia e Produtividade**, v. 2, n. 9, p. 61 - 82, 2015.

UENO, T. Effects of host size and laboratory rearing on offspring development and sex ratio in the solitary parasitoid *Agrothereutes lanceolatus* (Hymenoptera: Ichneumonidae). **European Journal of Entomology**, v. 112, n. 2, p. 281 – 287, 2015.

ZAGO, H. B.; PRATISSOLI, D.; BARROS, R.; GONDIM JR, M. G. Biologia e exigências térmicas de *Trichogramma pratissolii* Querino & Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em hospedeiros alternativos. **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 3, p. 377 - 381, 2006.

CAPÍTULO II

REPRODUÇÃO DE *Tetrastichus howardi* (OLLIFF, 1893) (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EM DIFERENTES DENSIDADES EM PUPAS DE *Chrysodeixis includens* (WALKER, [1858]) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

RESUMO: *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) é um parasitoide de diferentes lepidópteros que ocorrem em plantas cultivadas por todo o mundo. Nosso objetivo foi avaliar o parasitismo e desenvolvimento de *T. howardi* em diferentes densidades em pupa de *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae). Pupas de *C. includens* com até 48 horas de idade, foram expostas por 24 horas, ao parasitismo por fêmeas de *T. howardi* nas densidades de 1:1, 5:1, 10:1, 15:1, 20:1 e 25:1 (fêmeas do parasitoide: pupa de *C. includens*). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), constituído de 6 tratamentos (densidades) em 10 repetições, sendo que cada repetição foi constituída por 5 pupas individualizadas com as respectivas densidades do parasitoide. Após o parasitismo, as fêmeas foram removidas e as pupas foram mantidas em sala climatizada a 25 ± 1 °C, $70 \pm 10\%$ de UR e fotofase de 14 horas. A porcentagem de parasitismo de *T. howardi* em pupas de *C. includens* variou de $74,00 \pm 6,00$ (densidade 1:1) a $96 \pm 2,67$ (densidade 25:1). A duração do ciclo (ovo-adulto) de *T. howardi* variou de $18,25 \pm 0,11$ dias (densidade 1:1) a $17,22 \pm 0,23$ dias (densidade 25:1). A progênie por pupa foi de $72,85 \pm 3,11$ e $246,45 \pm 10,74$ nas densidades de 1:1 e 25:1, respectivamente. A progênie por fêmeas de *T. howardi* na densidade de 1:1 obteve média de $68,95 \pm 2,98$, e ao aumentar a densidade, notou-se a redução gradativa da porcentagem da progênie por fêmeas, sendo que a maior densidade (25:1), expôs a menor porcentagem $8,27 \pm 0,33$. A razão sexual decresceu com o aumento da densidade de fêmeas, sendo $0,95 \pm 0,00$ para a densidade 1:1 e para a densidade de 25:1 foi de $0,84 \pm 0,01$. A porcentagem de emergência não apresentou diferença entre as densidades, e a longevidade de fêmeas foi de $10,45 \pm 0,52$ dias na densidade de 1:1 e $11,36 \pm 1,04$ dias na densidade de 25:1. Já a longevidade de machos foi de $14,20 \pm 1,86$ e $17,80 \pm 3,22$ dias nas densidades de 1:1 e 25:1, respectivamente. Notamos que, uma fêmea de *T. howardi* é capaz de parasitar e se desenvolver em pupa de *C. includens*, entretanto, cinco a dez fêmeas de *T. howardi* é a densidade ideal para sua criação massal em pupas de *C. includens*. Essas informações são importantes para que novos estudos sejam realizados com este parasitoide em condições de campo.

Palavras-chave: Parasitoides de pupas; Lagarta-falsa-medideira; Eulophidae; Criação massal; Densidade de parasitoides.

REPRODUCTION OF *Tetrastichus howardi* (OLLIFF, 1893) (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) IN DIFFERENT DENSITIES IN PUPAES OF *Chrysodeixis includens* (WALKER, [1858]) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

ABSTRACT: *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) is a parasitoid of different lepidopterans that occur in cultivated plants throughout the world. Our objective was to evaluate the parasitism and development of *T. howardi* at different densities in pupae of *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae). *C. includens* pupae up to 48 hours of age were exposed for 24 hours to parasitism by *T. howardi* females at densities of 1:1, 5:1, 10:1, 15:1, 20:1 and 25 :1 (parasitoid females: *C. includens* pupae). The experimental design was completely randomized (DIC), consisting of 6 treatments (densities) in 10 repetitions, with each repetition consisting of 5 individualized pupae with the respective parasitoid densities. After parasitism, the females were removed and the pupae were kept in an acclimatized room at 25 ± 1 °C, $70 \pm 10\%$ RH and a 14 hours photophase. The percentage of *T. howardi* parasitism in *C. includens* pupae ranged from 74.00 ± 6.00 (density 1:1) to 96 ± 2.67 (density 25:1). The cycle duration (egg-adult) of *T. howardi* ranged from 18.25 ± 0.11 days (density 1:1) to 17.22 ± 0.23 days (density 25:1). The progeny per pupa was 72.85 ± 3.11 and 246.45 ± 10.74 at densities of 1:1 and 25:1, respectively. The progeny by females of *T. howardi* in the density of 1:1 had an average of 68.95 ± 2.98 , and when increasing the density, it was noticed a gradual reduction of the percentage of the progeny by females, with the highest density (25:1), exposed the lowest percentage 8.27 ± 0.33 . The sex ratio decreased with increasing female density, being 0.95 ± 0.00 for the 1:1 density and for the 25:1 density it was 0.84 ± 0.01 . The emergence percentage showed no difference between the densities, and the longevity of females was 10.45 ± 0.52 days in the 1:1 density and 11.36 ± 1.04 days in the 25:1 density. The longevity of males was 14.20 ± 1.86 and 17.80 ± 3.22 days at densities of 1:1 and 25:1, respectively. We note that a female of *T. howardi* is capable of parasitizing and developing in pupae of *C. includens*, however, five to ten females of *T. howardi* is the ideal density for its mass rearing in pupae of *C. includens*. This information is important for further studies to be carried out with this parasitoid under field conditions.

Key-words: Pupal parasitoids; Soybean looper; Eulophidae; Mass rearing, Parasitoid density.

1 INTRODUÇÃO

O controle biológico de insetos, mediante a utilização de inimigos naturais, é uma estratégia eficaz, sustentável e benéfica à natureza. É uma estratégia promissora no equilíbrio de populações de pragas agrícolas e favorece a sustentabilidade dos agroecossistemas (SILVA et al., 2020a).

A utilização de parasitoides para conter os mais diversos insetos-praga, demanda uma grande quantidade dos mesmos, tendo-se a necessidade de fazer criações massais em laboratório no sentido de contribuir para a liberação a campo, bem como no desenvolvimento de pesquisa, a fim de coletar dados bioecológicos destes (PARRA; CÔNSOLI, 2009; TIAGO et al., 2019).

Os parasitoides são insetos que dependem diretamente de um hospedeiro (natural e/ou alternativo) para a manutenção de sua vida. Esses inimigos naturais podem ser endoparasitoides ou ectoparasitoides, no qual, alteram a fisiologia e o desenvolvimento do inseto parasitado, por meio da inoculação de toxinas, modificando as respostas imunológicas levando conseqüentemente, o hospedeiro à morte (ABREU et al., 2015; TANG et al., 2019).

Entre os parasitoides usados em programas de controle biológico, destacamos *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) inseto da ordem Hymenoptera, subordem Apocrita, da superfamília Chalcidoidea, família Eulophidae e subfamília Tetrastichinae. É um endoparasitoide, gregário, primário e polífago, que se desenvolve no interior de seu hospedeiro, com aptidão de ovipositar vários indivíduos em um único vetor, possui capacidade de parasitar pupas de lepidópteros-praga de grandes culturas de valor econômico (KFIR et al., 1993; MENG et al., 2018; BARBOSA, et al., 2019), com capacidade de parasitar por exemplo a *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae) espécie polífaga, com alta taxa de fecundidade e rápido desenvolvimento, capaz de alimentar-se de cerca de 1704 espécies de 39 famílias de plantas. Hábil a causar grandes prejuízos econômicos em culturas de interesse agrícola como a soja [*Glycine max* (L.) Merrill], feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), batata (*Solanum tuberosum* L.), amendoim (*Arachis hypogaea* L.), girassol (*Helianthus annuus* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.) entre outras, uma vez que não haja o controle (SILVA et al., 2020b; SPECHT et al., 2015).

Devido *T. howardi* ter a aptidão de parasitar vários hospedeiros em diversas fases de desenvolvimento (KFIR et al., 1993; PEREIRA et al., 2015; BARBOSA, et al., 2019; TANG et al., 2019), tem-se a possibilidade do uso desse inimigo natural como agente de controle biológico de *C. includens*.

O emprego deste inimigo natural no controle biológico de populações de insetos-praga, vem obtendo respaldo em diversas culturas de interesse agrícola (PEREIRA et al., 2015; TIAGO et al., 2019; FAVORETO et al., 2021; RODRIGUES et al., 2021).

A utilização de *T. howardi* no controle biológico de populações de insetos-praga, necessita da análise de sua aptidão reprodutiva em relação à densidade do mesmo em seu hospedeiro. A prole do parasitoide está interligada às exigências nutricionais necessárias para o desenvolvimento dos imaturos, sendo que a densidade de parasitoides por hospedeiros pode vir a interferir na qualidade e quantidade do mesmo (PEREIRA et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2016; BARBOSA et al., 2019).

Assim, as informações a partir da compreensão das variações da densidade de parasitoides por hospedeiro permitem saber a real capacidade do inimigo natural em conter a população de insetos-praga (SILVA-TORRES et al., 2010).

Desse modo, o presente trabalho teve como objetivo, avaliar o parasitismo e a reprodução de *T. howardi* com diferentes densidades em pupas de *C. includens*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Localização do experimento

A multiplicação dos insetos e o ensaio experimental foram conduzidos no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) (22° 11'56,56" S, 54° 56' 1,396" W) pertencente a Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) no município de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil em salas climatizadas à $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa (UR) de $70 \pm 20\%$ e fotoperíodo de 14 horas.

2.2 Multiplicação e manutenção de *Tetrastichus howardi*

A produção do parasitoide *T. howardi* iniciou-se a partir de uma criação já estabelecida no LECOBIOL. A criação iniciou-se com fêmeas adultas do parasitoide com 24 horas de idade, após a copula com os parasitoides machos.

Os parasitoides foram introduzidos em tubos (2,5 cm de diâmetro x 8,5 cm de comprimento) em grupos de cinco indivíduos fêmeas, simultaneamente com uma pupa de *Chrysodeixis includens* com idade de 24 a 48 horas, sendo a abertura do tubo vedado com algodão. Uma gotícula de mel puro introduzida na parede interna dos tubos serviu como alimento para as fêmeas do parasitoides (Adaptado BARBOSA et al., 2019).

A determinação do sexo foi realizada de acordo com o dimorfismo das antenas de *T. howardi* no qual, antenas das fêmeas possuem três segmentos funiculares de coloração escura e escapo sem placa sensorial na margem ventral. A antena dos machos denota quatro segmentos, tendo apenas a clava de coloração escura e o escapo exibe uma placa sensorial na margem ventral (ANEXO 7) (LA SALLE; POLASZEK, 2007).

O parasitismo foi permitido por 24 horas, após esse período, estas fêmeas parasitoides foram retiradas, permanecendo somente as pupas, até a emergência (cerca de 17 dias) dos novos parasitoides adultos, retomando o ciclo de criação do parasitoide (ANEXO 8).

2.3 Multiplicação e manutenção de *Chrysodeixis includens*

Inicialmente a criação de *C. includens* procedeu-se por meio da aquisição de ovos pela empresa Pragas.com. Após a eclosão das lagartas, estas foram mantidas em copos plásticos de 500 ml com o fundo revestido com dieta artificial adaptada de Greene et al. (1976) e lacrado com tampa perfurada até atingirem o 3º instar larval. Logo foram transferidas para novos copos plásticos com dieta artificial, onde estes indivíduos permaneceram nos copos até se transformarem em pupas (ANEXO 1 e 2).

As pupas foram agrupadas em 75 fêmeas e 75 machos, em potes plásticos de 300 mL com fundo forrado por papel toalha e fechado com tecido “voil”, permanecendo por 6 dias no recipiente. A sexagem das pupas foi realizada sob estereomicroscópio (Motic SMZ-168).

No sétimo dia, estas pupas foram alocadas em gaiolas de tubos de PVC (25 cm de diâmetro por 30 cm de altura). O interior das gaiolas foi revestido com papel sulfite de cor rósea, e a parte superior vedada com tecido “voil” presa por gomas elásticas, sendo então sobrepostas em bandejas de plástico de cor verde claro (ANEXO 3) (Adaptado BARBOSA et al., 2018).

Copos plásticos de 50 mL com um chumaço de algodão embebido em solução aquosa de mel a 10 %, foram introduzidos no interior das gaiolas de PVC, sendo a solução utilizada como alimento para os adultos.

As gaiolas foram colocadas sobre estantes de aço sob iluminação artificial de duas lâmpas fluorescentes dispostas paralelamente (MAXXI® F 18W T8 Rosa do tipo Gro-lux e SYLVANIA® F 20W T10 5000K Luz do Dia Plus), sendo estas ligadas a um temporizador digital por um período de 14 horas de luz, para estimulação da cópula e da oviposição (ANEXO 4) (Adaptado MORANDO, 2014).

A oviposição das mariposas, iniciou-se a partir do quarto dia sob iluminação artificial, sendo pico atingido no sétimo dia, sendo então coletados os papéis sulfite contendo as posturas (ANEXO 5).

Os papéis foram inseridos em potes de plásticos de 7000 mL com a parte superior vedada por tecido “voil”. Após a eclosão das lagartas, estas permaneceram nos potes sendo alimentados por cubos de dieta artificial até atingirem o 3º instar. Em seguida, foram agrupadas em 100 indivíduos e transferidas para novos potes plásticos de 7000 mL, sendo mantida a alimentação a base de dieta artificial até se transformarem em pupas, reiniciando o ciclo (ANEXO 6) (Adaptado BARBOSA et al., 2018).

2.4 Parasitismo e desenvolvimento de *Tetrastichus howardi* em diferentes densidades em pupas de *Chrysodeixis includens*

Pupas de *C. includens* com 24 até 48 horas de idade, foram expostas ao parasitismo por fêmeas de *T. howardi* nas densidades de 1:1, 5:1, 10:1, 15:1, 20:1 e 25:1 (fêmeas do parasitoide: pupa), pelo período de 24 horas.

Para determinação dos sexos dos parasitoides, foi utilizado o dimorfismo das antenas de *T. howardi* (ANEXO 7) (LA SALLE; POLASZEK, 2007).

Fêmeas de *T. howardi* foram colocadas no interior dos tubos (150 mm de comprimento por 20 mm de largura) e alimentadas com uma gotícula de mel puro colocado na parede interna do tubo, posteriormente foi introduzido as pupas, sendo os tubos vedados com algodão (Adaptado OLIVEIRA et al., 2016).

Após a exposição por 24 horas, as fêmeas de *T. howardi* foram retiradas dos tubos com o auxílio de um pincel de cerdas finas, e descartadas, enquanto as pupas foram mantidas nos tubos até a emergência dos parasitoides (ANEXO 9) (Adaptado BARBOSA et al., 2015).

A porcentagem de parasitismo [(número de pupas com emergência de parasitoides + pupas sem emergência de adultos do parasitoide) / (número total de pupas) x 100], a porcentagem de emergência [(número de pupas com emergência de adultos dos parasitoides) / (número de pupas parasitadas) x 100]; a duração do ciclo (ovo-adulto) em dias; o número de parasitoides emergidos por pupa (progênie); a progênie por fêmea; a razão sexual dos parasitoides (RS= número de fêmeas / número de adultos) e a longevidade de machos e fêmeas (Adaptado Barbosa et al., 2015; TIAGO et al., 2019) foram avaliados.

A determinação da mortalidade natural de *C. includens* foi realizada alocando-se individualmente 50 pupas em potes plásticos de 100 mL e contabilizando o número de adultos emergidos. Assim a mortalidade natural do hospedeiro foi definida pela fórmula de Abbott $M_c (\%) = (\%M_o - \%M_t) / (100 - \%M_t) \times 100$, em que M_c = mortalidade corrigida; M_o = mortalidade observada e M_t = mortalidade na testemunha (ABBOTT, 1925).

2.5 Delineamento experimental e análises estatísticas

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos e dez repetições, sendo que cada repetição foi representada por cinco pupas individualizadas com fêmeas do parasitoide nas respectivas densidades dos tratamentos, totalizando cinquenta pupas (unidades experimentais) por tratamento avaliado.

Os dados foram submetidos à análise de regressão a 5% de probabilidade. A escolha da equação que melhor se ajustou aos dados foi com base no coeficiente de determinação (R^2), na significância dos coeficientes de regressão (β_i) e de regressão pelo teste F (até 5% de probabilidade).

As análises foram processadas utilizando-se a versão do SigmaPlot (Copyright © 2020 Systat Software Inc, 2107 North First Street, Suite 360 San Jose, CA 95131 EUA).

3 RESULTADOS

A porcentagem de parasitismo por fêmeas de *T. howardi*, expostas pelo período de 24 horas a pupas de *C. includens* em condições de laboratório, demonstrou que na densidade de 1:1, a média foi de $74,00 \pm 6,00$ %. Nas densidades de 5:1, 10:1, 15:1, 20:1 e 25:1, as médias observadas foram de $92,00 \pm 3,27$ %, $96 \pm 2,67$ %, $96 \pm 2,67$ %, $98,00 \pm 2,00$ % e $96 \pm 2,67$ %, respectivamente, não havendo diferença significativa entre estas densidades, apontando um maior parasitismo acima de 90%, quando há um aumento no número de parasitoides (Figura 1).

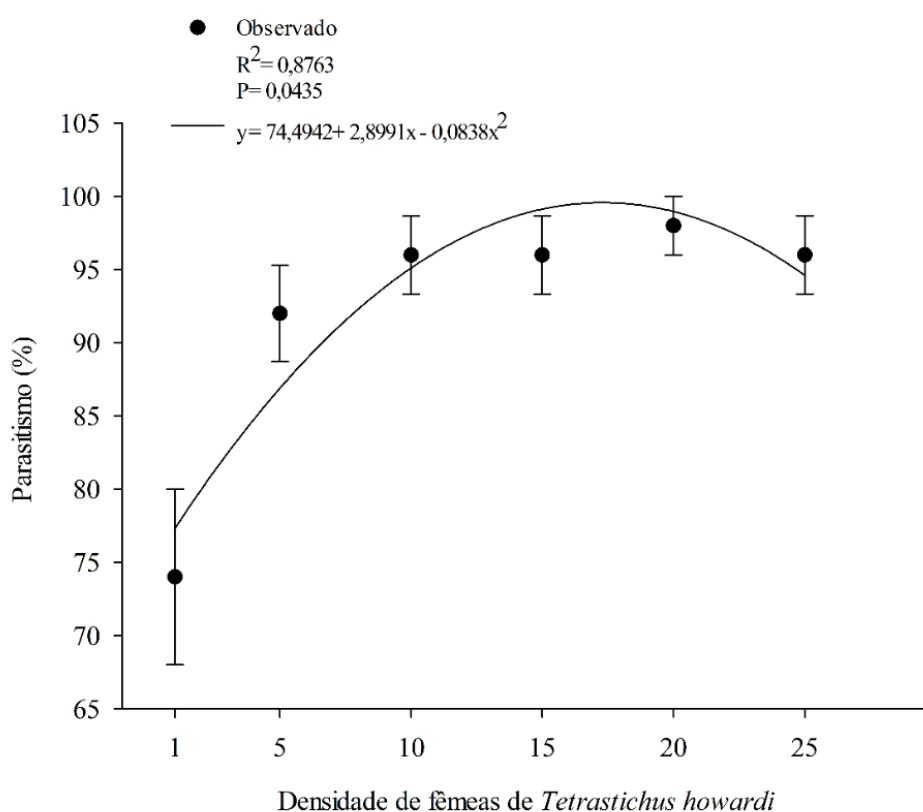


Figura 1. Parasitismo (%) de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) em função da densidade do parasitoide. 25 ± 2 °C, umidade relativa de 70 ± 20 % e fotoperíodo de 14h. Dourados-MS, 2021.

Ao observa a duração do ciclo (dias) de *T. howardi*, durante 24 horas de parasitismos em pupas de *C. includens*, em função da densidade do parasitoide, constatou-se um maior tempo no ciclo de vida na densidade de 1:1, em comparação aos demais tratamentos, com média de $18,25 \pm 0,11$. Não houve diferenças entre as demais densidades. Ao verificar as demais densidades, constatou médias de $17,40 \pm 0,08$ para 5:1, $16,92 \pm 0,13$ para 10:1, $17,26 \pm 0,19$ para 15:1, $16,91 \pm 0,10$ para 20:1 e $17,22 \pm 0,23$ para a densidade de 25:1, não havendo diferença (Figura 2).

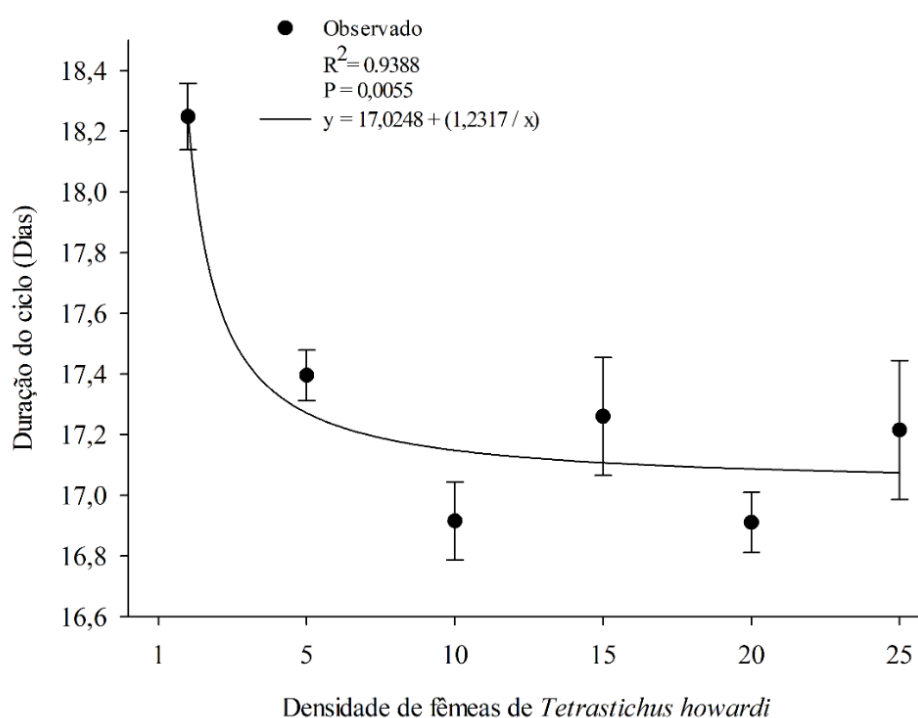


Figura 2. Duração do ciclo de vida (dias) de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) em função da densidade do parasitoide. 25 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 20\%$ e fotofase de 14h. Dourados -MS, 2021.

Ao analisar a progênie por pupa, de *T. howardi*, após um período de 24 horas de parasitismo em pupas de *C. includens*, verificou-se um aumento gradual até a densidade de 15:1, após essa densidade constatou declínio da curva. A densidade de 1:1, obteve média de $72,85 \pm 3,11$, já na densidade de 5:1, a média mais do que dobrou, $168,62 \pm 8,29$. Na densidade de 10:1 a média foi e $236,82 \pm 12,12$, 15:1, o aumento foi expressivo com média de $256,31 \pm 13,11$, sendo esta densidade a que gerou uma maior prole. A partir das densidades de 20:1 e 25:1, houve uma queda na progênie, com médias de $247,43 \pm 11,88$ e $246,45 \pm 10,74$, não havendo diferença nas densidades de 10:1, 15:1, 20:1 e 25:1 (Figura 3).

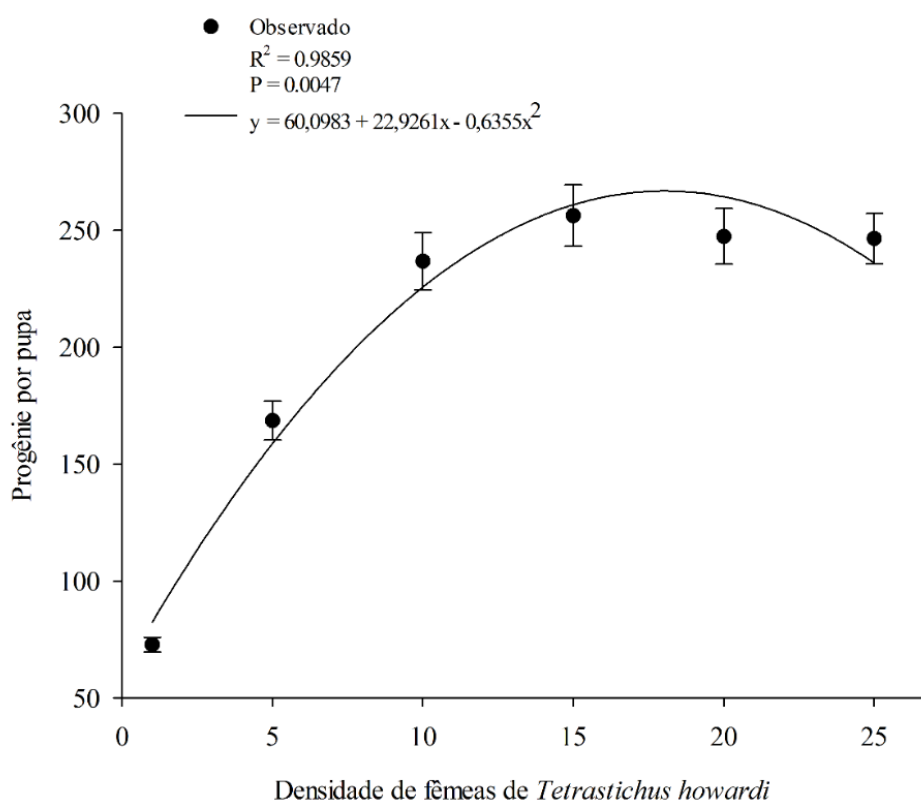


Figura 3. Progênie por pupa de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) em função da densidade do parasitoide. 25 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 20\%$ e fotofase de 14h. Dourados -MS, 2021.

A progênie por fêmeas de *T. howardi*, pelo período de 24 horas de parasitismo sobre pupas de *C. includens*, demonstrou que na densidade de 1:1 a média foi de $68,95 \pm 2,98$, diferenciando significativamente das densidades subsequentes, sendo esta densidade superior aos demais. Ao aumentar a densidade, notou-se a redução gradativa da porcentagem da progênie por fêmeas, onde as densidades de 5:1, 10:1, 15:1, 20:1 e 25:1, apresentaram médias de $30,72 \pm 1,61$, $21,34 \pm 1,08$, $14,75 \pm 0,73$, $10,23 \pm 0,47$ e $8,27 \pm 0,33$, concomitantemente, sendo que a maior densidade (25:1), expôs a menor porcentagem (Figura 4).

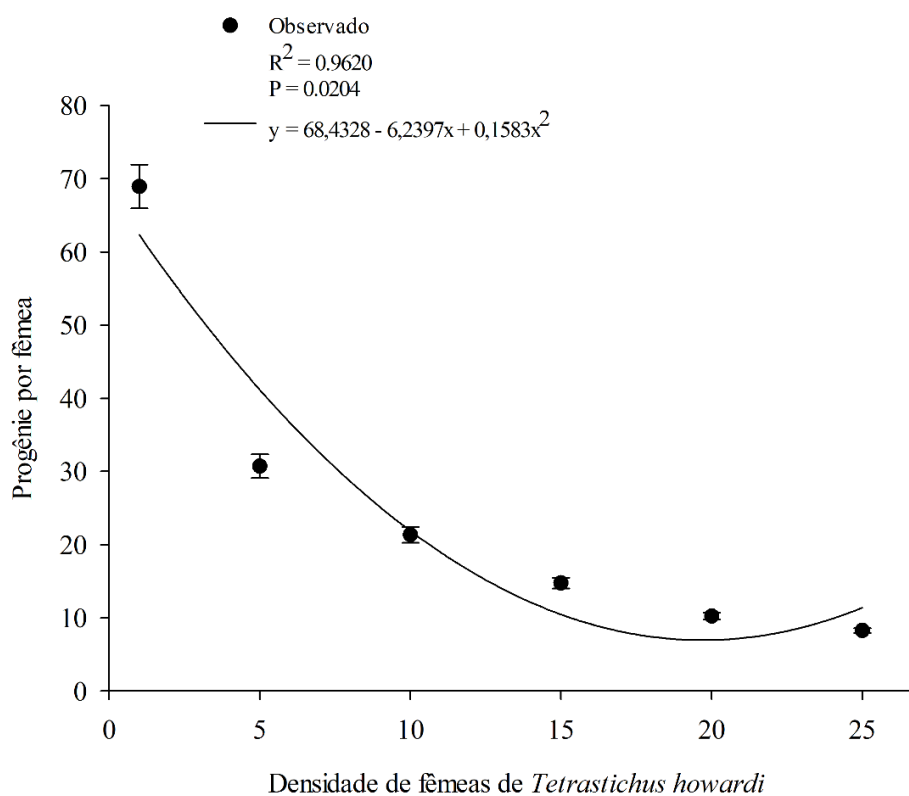


Figura 4. Progênie por fêmea de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) em função da densidade do parasitoide. 25 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 20\%$ e fotofase de 14h. Dourados -MS, 2021.

Verificando a razão sexual de *T. howardi*, pelo período de 24 horas em pupas de *C. includens*, constatou-se uma maior densidade no tratamento 1:1, sendo observando uma queda gradativa conforme o aumento da densidade. Na densidade de 1:1 a média foi de $0,95 \pm 0,00$, já nas densidades seguintes, 5:1 e 10:1, as médias foram de $0,92 \pm 0,01$ e $0,90 \pm 0,01$. A média para a densidade de 15:1 foi de $0,87 \pm 0,01$, para 20:1 foi de $0,83 \pm 0,01$ e para 25:1 foi de $0,84 \pm 0,01$, não havendo diferença entre as densidades (Figura 5).

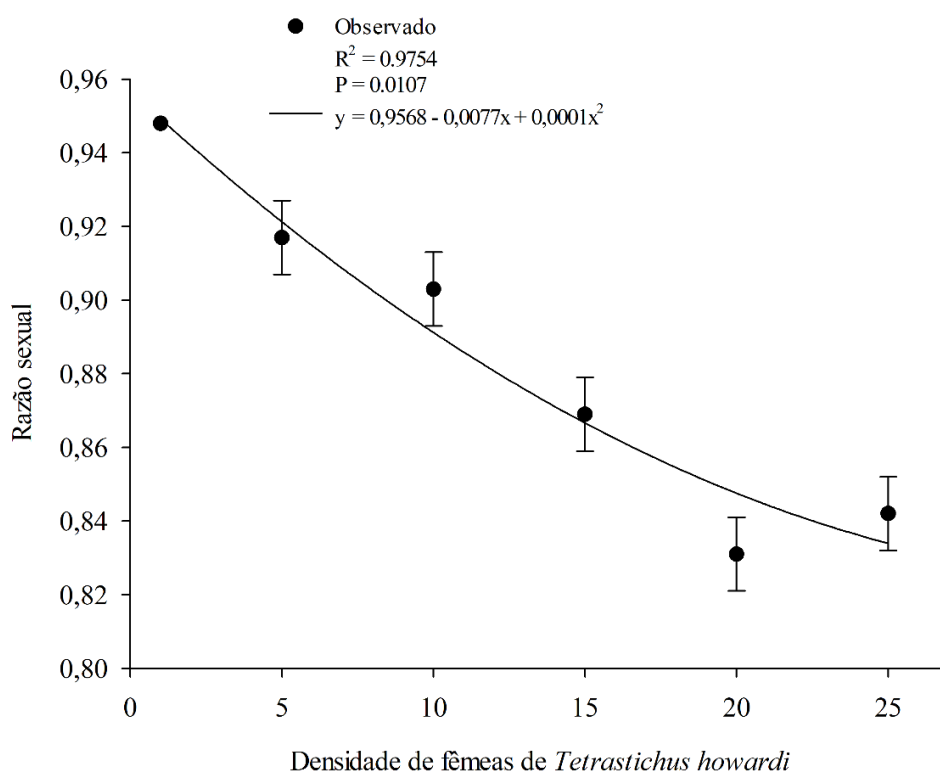


Figura 5. Razão sexual de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) em função da densidade do parasitoide. 25 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 20\%$ e fotofase de 14h. Dourados -MS, 2021.

A porcentagem de emergência de *T. howardi* em pupas de *C. includens* em função da densidade de fêmeas do parasitoide, expostas ao parasitismo por 24 horas, foi semelhante. A longevidade de fêmeas (dias), não diferiu entre as densidades, no entanto a longevidade dos machos (dias), foi superior à das fêmeas, observando uma maior média para densidade de 10:1, no entanto, em ambas as densidades, não foram significativos (Quadro 1).

Quadro 1. Características biológicas (médias \pm erro padrão) de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) em função da densidade do parasitoide. 25 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 20\%$ e fotoperíodo de 14h. Dourados-MS, 2021

Características biológicas	Densidade (N.º) de fêmeas de <i>Tetrastichus howardi</i>						
	1	5	10	15	20	25	
Emergência (%)	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00	98,00 \pm 2,00	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00	n.s
Longevidade de fêmeas (Dias)	10,45 \pm 0,52	9,95 \pm 0,66	10,05 \pm 0,99	11,50 \pm 0,78	10,65 \pm 0,99	11,36 \pm 1,04	n.s
Longevidade de Machos (Dias)	14,20 \pm 1,86	16,00 \pm 3,19	22,70 \pm 3,35	13,80 \pm 2,18	16,20 \pm 1,74	17,80 \pm 3,22	n.s

n. s = Não significativo ($p \geq 0,05$).

4 DISCUSSÃO

A utilização de parasitoides para controlar pragas agrícolas vem se intensificando, assim como estudos de parasitismos e reprodução desses insetos benéficos sobre insetos-praga que acometem culturas de interesses econômicos (KASSAB et al.; 2020; COUTINHO et al., 2021; RODRIGUES et al., 2021).

O estudo do parasitismo por fêmeas do parasitoide em densidades diferentes é de suma importância. No presente trabalho, a densidade influenciou na reprodução de *T. howardi*. A reprodução de *Cotesia flavipes* Cameron, 1891 (Hymenoptera: Braconidae) em diferentes densidades de fêmeas do parasitoide, em lagartas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), constatou que ao aumentar a densidade do parasitoide sobre o hospedeiro, houve interferência nas características biológicas do parasitoide ocorrendo o decréscimo da porcentagem de parasitismo no número de fêmeas e machos, razão sexual, fêmeas produzidas por fêmeas, progênie por lagarta e no comprimento do corpo de *C. flavipes* (KASSAB et al., 2020).

As porcentagens de parasitismo e emergência de *T. howardi* sobre pupas de *C. includens*, não foram influenciadas pela densidade de fêmeas do parasitoide. O aumento da porcentagem de parasitismo, conforme ao aumento da densidade do parasitoide, não foi prejudicial. Isto se deve à oferta de uma única pupa para vários parasitoides, no qual foram confinados em um mesmo recipiente, onde a fêmea prefere parasitar uma pupa já parasitada por outro parasitoide, no intuito de garantir sua prole e gerar novos descendentes, mesmo que haja superparasitismo (KASSAB et al.; 2020).

Ao estudarem o parasitismo de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae), observou-se o aumento do parasitismo de acordo com o aumento da densidade do parasitoide (OLIVEIRA et al., 2018). Este fato, constata a adequabilidade do parasitoide ao desenvolver na pupa hospedeira, no qual os imaturos do parasitoide necessitam suprir suas exigências nutricionais e impedir que o sistema imunológico da pupa os extermine, sendo que altas densidades de parasitoides são capazes de diminuir os hemócitos circulantes na hemolinfa da pupa hospedeira, favorecendo os desenvolvimentos dos imaturos (CÔNSOLI; VINSON 2009; ANDRADE et al., 2010).

A maior duração do ciclo de vida (dias) de *T. howardi*, pela menor densidade de fêmeas do parasitoide, é devido a uma única fêmea por uma pupa do hospedeiro. No entanto, no presente trabalho não houve diferença entre as densidades, mesmo ocorrendo superparasitismo. Por outro lado, pode ocorrer o decréscimo do ciclo de vida, sendo esta queda observada no ciclo de vida de *T. diatraeae* em pupas de *D. saccharalis*, ou seja, ao aumentar a densidade do parasitoide, ocorreu o superparasitismo, pelo ataque de mais de uma fêmea por pupa, resultando no decréscimo do ciclo de vida do parasitoide (VARGAS et al., 2014).

O maior número de indivíduos de *T. howardi*, gerado por pupa de *C. includens* (progênie por pupa), foi na densidade de 15 fêmeas do parasitoide por uma pupa do hospedeiro, demonstrando que esta densidade é o suficiente para anular o sistema de defesa deste hospedeiro.

Resultados semelhantes foram observados, ao avaliar o parasitismo de *Palmistichus elaeisis* Delvare; LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) em diferentes densidades de fêmeas desse parasitoide por pupa de *Thyrintina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae) (BARBOSA et al., 2016).

No entanto, nas densidades de 10:1, 20:1 e 25:1, não ocorreu redução no número de indivíduos, mostrando que esta densidade não interfere na prole do parasitoide, já nas densidades de 1:1 e 5:1, notou-se o menor número de indivíduos, indicando que essas densidades são impróprias, resultando em competição, baixa oviposição e morte dos parasitoides imaturos (PEREIRA et al. 2010; PEREIRA et al. 2013).

Ao decorrer do aumento da densidade desse parasitoide, sobre pupas de *C. includens*, houve a redução gradativa do número de indivíduos na progênie por fêmeas. A redução do número de fêmeas geradas em cada pupa do hospedeiro, pode estar ligada à baixa disponibilidade de nutriente necessário para o desenvolvimento de fêmeas parasitoides, sendo que o acréscimo de machos pode influenciar na competição intraespecífica dos imaturos (SAGARRA; VINCENT, 1999; IRVIN; HODDLE, 2006; VARGAS et al., 2014).

A razão sexual de *T. howardi* na densidade de 1:1 até 10:1 apresentaram índices superiores a 0,9, constatando uma excelente condição dos parasitoides. A proporção sexual do parasitoide é de suma relevância para ensaios laboratoriais, metodologias de criação massal e liberação a campo dos parasitoides (PEREIRA et al. 2013; TIAGO et al., 2019). No entanto, as demais densidades mantiveram valores superiores a 0,83, sendo que o índice igual ou superior a 0,5, é considerado ideal para

criação massal do parasitoide (DA SILVA et al., 2008). Ao avaliar a razão sexual de *T. howardi*, criados em pupas de *Diatraea impersonatella* (Walker, 1863) (= *D. flavipennella*) (Lepidoptera: Crambidae), observou-se valores de até 95 % da proporção sexual do parasitoide, demonstrando uma excelente aptidão do parasitoide sobre o hospedeiro (RODRIGUES et al., 2021).

A longevidade de machos e fêmeas foi semelhante em todas as densidades, sendo que as dos machos foi superior à das fêmeas. No entanto, este parâmetro não influencia a multiplicação de *T. howardi* (PIÑEYRO et al., 2016). A capacidade de sobrevivência dos parasitoides é primordial para criação massal, sendo um requisito importante para o controle de qualidade e controle de insetos-praga, (QUEIROZ et al. 2017; TIAGO et al., 2019). A longevidade maior que 10 dias é uma característica favorável à espécie, favorecendo a cópula dos machos, e um maior tempo de busca por hospedeiros pelas fêmeas, e também quanto maior for o tamanho do parasitoide, mais tempo de vida ele terá. (PRATISSOLI et al., 2005).

O parasitismo e a reprodução de *T. howardi* com diferentes densidades em pupas de *C. includens*, ressaltou uma excelente qualidade nutricional das pupas do hospedeiro para multiplicação massal em diferentes densidades do parasitoide.

5 CONCLUSÃO

Uma fêmea de *T. howardi* é capaz de parasitar e se desenvolver em pupa de *C. includens*, informação importante para que novos estudos sejam realizados com este parasitoide em condições de campo. De maneira geral, 5 a 10 fêmeas de *T. howardi* é a densidade ideal para sua criação em pupas de *C. includens*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal Economy Entomology**, v. 18, n. 2, p. 265-267, 1925.
- ABREU, J. A. S.; ROVIDA, A. F. S.; CONTE, E. Controle biológico por insetos parasitoides em culturas agrícolas no Brasil: revisão de literatura. **Revista Uningá Review**, v. 22, n. 2, p. 22 - 25, 2015.
- ANDRADE, G. S.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C.; ZANUNCIO, T. V.; LEITE, G. L. D.; POLANCZYK, R. A. Immunity of an alternative host can be overcome by higher densities of its parasitoids *Palmistichus elaeisis* and *Trichospilus diatraeae*. **Plos One**, v. 5, n. 10, p. 1-7, 2010.
- BARBOSA, R. H.; PEREIRA, F. F.; MOTOMIYA, A. V. A.; KASSAB, S. O.; ROSSONI, C.; TORRES, J. B.; MUSSURY, R. M.; PASTORI, P. L. *Tetrastichus howardi* density and dispersal toward augmentation biological control of sugarcane borer. **Neotropical Entomology**, v. 48, n. 2, p. 323-331, 2019.
- BARBOSA, M. S.; DIAS, B. B.; SANTANA, M. S.; VIEIRA, G. H. C.; Applying plant oils to control fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in corn. **Australian Journal of Crop Science**, Australia-AUS, v. 12, n. 4, p. 557 - 562, 2018.
- BARBOSA, R. H.; ZANUNCIO, J. C.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; ROSSONI, C. Foraging activity of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) at various densities on pupae of the eucalyptus defoliator *Thyrintina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae). **The Florida Entomologist**, v. 99, n. 4, p. 121 - 127, 2016.
- CÔNSOLI, F. L.; VINSON, S. B. 2009. Parasitoides. In: Panizzi, A. R.; Parra, J.R.P. (eds), **Bioecologia e Nutrição dos Insetos**. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, p. 837 - 873, 2009.
- COUTINHO, C. R.; SOUZA, S. A.; PONTES, A. D. S.; GODOY, M. S.; PEREIRA, F. F.; PASTORI, P. L. Thermal requirements of *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) lines in *Neoleucinodes elegantalis* (Lepidoptera: Crambidae) eggs. **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 47, n. 1, p. 1 - 6, 2021.
- DA SILVA, N. D.; PARRA, J. R. P.; DA COSTA, T. C. L. Seleção de hospedeiro alternativo para três espécies de tricogramátídeos neotropicais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 11, p. 1467-1473, 2008.
- FAVORETO, A. L.; PAVANI, R. F.; RIBEIRO, M. F.; ZANUNCIO, A. J. V.; SOARES, M. A.; ZANUNCIO, J. C.; WILCKEN, C. F. *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae): first report of parasitism in *Oxydia vesulia* (Lepidoptera: Geometridae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 81, n. 2, p. 406 - 410, 2021.

GREENE, G. L.; LEPPLA, N. C.; DICKERSON, W. A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial médium. **Journal Economy Entomology**, v. 69, n. 4, p. 487-488, 1976.

INVIN, N. A.; HODDLE, M. S. The effect of intraspecific competition on progeny sex ratio in *Gonatocerus* spp. for *Homalodisca coagulata* egg masses: economic implications for mass rearing and biological control. **Biological Control**, v. 39, n. 2, p. 162 – 170, 2006.

KASSAB, S. O.; BARBOSA, M. S.; PEREIRA, F. F.; ROSSONI, C.; PASTORI, P. L.; LUCCHETTA, J. T.; GUERRA, M. S.; ZANUNCIO, J. C. Reproductive Potential and Biological Characteristics of the Parasitoid *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) in *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) Depending on Parasitoid-Host Ratio. **Florida Entomologist**, v. 103, n. 3, p. 316 - 320, 2020.

KFIR, R.; GOUWS, J.; MOORE, S. D. Biology of *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae): a facultative hyperparasitoid of stem borers. **Biocontrol Science and Technology**, v. 3, n. 2, p. 149- 159, 1993.

LA SALLE, J.; POLASZEK, A. Afrotropical species of the *Tetrastichus howardi* species group (Hymenoptera: Eulophidae). **African Entomology**, v. 15, n. 1, p. 45-56, 2007.

MENG, E.; QIAO, T.; TANG, B.; HOU, Y.; YU, W.; CHEN, Z. Effects of ovarian fluid, venom and egg surface characteristics of *Tetrastichus brontispae* (Hymenoptera: Eulophidae) on the immune response of *Octodonta nipae* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Journal of Insect Physiology**, v. 109, n. 1, p. 125–137. 2018.

MORANDO, R. **Resistência de genótipos de feijoeiro a *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: noctuidae)**. 2014. 81p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônômicas-UNESP, 2014.

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. Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) with Different Densities and Parasitism Periods in *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) Pupae. **Folia Biologica-Krakow**, v. 66, n. 3, p. 103 - 110, 2018.

OLIVEIRA, H. N.; SIMONATO, J.; GLAESER, D. F.; PEREIRA, F. F. Parasitism of *Helicoverpa armigera* pupae (Lepidoptera: Noctuidae) by *Tetrastichus howardi* and *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 1, p. 111-115, 2016.

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

PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, T. V.; PRATISSOLI, D.; PASTORI, P. L. The density of females of *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 82, n. 2, p. 323 – 331, 2010.

PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; KASSAB, S. O.; PASTORI, P. L.; BARBOSA, R. H.; ROSSONI, C. Biological characteristics of *Palmistichus elaeisis* Delvare & Lasalle (Hymenoptera: Eulophidae) on refrigerated pupae of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 73, n. 2, p. 86 – 91, 2013.

PEREIRA, P. F.; KASSAB, S. O.; CALADO, V. R. F.; VARGAS, E. L.; OLIVEIRA, H. N.; ZANUNCIO, J. C. Parasitism and Emergence of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) Larvae, Pupae and Adults. **Florida Entomologist**, v. 98, n. 1, p. 377 - 380, 2015.

PIÑEYRO, N. G.; PEREIRA F. F.; BORGES, F. L. G.; ROSSONI, C.; SILVA, A. S.; KASSAB S. O. ¿Multiplicar *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) en la oruga de la seda afecta su biología. **Acta Biológica**, v. 21, n. 1, p. 189-193, 2016.

PRATISSOLI, D.; ZANUNCIO, J. C.; VIANNA, U. R.; ANDRADE, J. S.; PINON, T. B. M.; ANDRADE, G. S. Thermal requirements *Trichogramma pretiosum* and *T. acacioi* (Hym.: Trichogrammatidae), parasitoids of the avocado defoliator *Nipteria panacea* (Lep.: Geometridae), in eggs of two alternative hosts. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, n. 4, p. 523–529, 2005.

QUEIROZ, A. P.; BUENO, A. D.; POMARI-FERNANDES, A.; GRANDE, M. L. M.; BORTOLOTTI; O. C.; SILVA, D. M. Quality control of *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) reared on the factitious host *Corcyra cephalonica* (Lepidoptera: Pyralidae) for successive generations. **Bulletin of Entomological Research**, v. 107, n. 6, p. 791-798, 2017.

RODRIGUES, A.; PEREIRA, F. F.; BARBOSA, P. R. R.; SILVA-TORRES, C. S. A.; TOREES, J. B. Parasitism Behavior of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on Larvae and Pupae of Sugarcane Borers. **Journal Of Insect Behavior**, v. 34, n. 3, p. 1-11, 2021.

SAGARRA, L. A.; VINCENT, C. Influence of host stage on oviposition, developments, sex ratio, and survival of *Anagyrus kamali* Moursi (Hymenoptera: Encyrtidae), a parasitoid of the Hibiscus Mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* Green (Homoptera: Pseudococcidae). **Biological Control**, v. 15, n. 1, p. 51 – 56, 1999.

SILVA, B. C.; COSTA, E. C.; SALDANHA, M. A.; PROCKNOW, D.; SOUZA, P. D. D.; CRODA, J. P.; CAPITANI, L. C. Métodos de controle e prevenção de insetos-praga em povoamentos florestais. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 48477 – 48496, 2020a.

SILVA, C. S.; CORDEIRO, E. M. G.; PAIVA, J. B.; DOURADO, P. M.; CARVALHO, R. A.; HEAD, G.; MARTINELLI, S.; CORREA, A. S. Population expansion and genomic adaptation to agricultural environments of the soybean looper, *Chrysodeixis includens*. **Evolutionary Applications**, n. 1, p. 1 – 15, 2020b.

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

SPECHT, A.; PAULA-MORAES, S. V.; SOSA-GÓMEZ, D. R. Host plants of *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera, Noctuidae, Plusiinae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 59, n. 4, p. 343–345, 2015.

STACKE, R. F.; GIACOMELLI, T.; BRONZATTO, E. S.; HALBERSTADT, S. A.; GARLET, C. G.; MURARO, D. S.; GUEDES, J. V. C.; BERNARDI, O. Susceptibility of Brazilian populations of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) to selected insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 112, n. 3, p. 1378-1387, 2019.

TANG, B. Z.; MENG, E.; ZANG, H. J.; ZANG, X. M.; ASGARI, S.; LIN, Y. P.; LIN, Y. Y.; PENG, Z. Q.; QIAO, T. ZHANG, X. F.; HOU, Y. M. Combination of label-free quantitative proteomics and transcriptomics reveals intraspecific venom variation between the two strains of *Tetrastichus brontispae*, a parasitoid of two invasive beetles. **Journal of Proteomics**, v. 192, n. 1, p. 37-53, 2019.

TIAGO, E. F.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; BARBOSA, R. H.; CARDOSO, C. R. G.; SANOMIA, W. Y.; PEREIRA, H. C.; SILVA, R. M. M. F.; ZANUNCIO, J. C. Biological Quality of *Tetrastichus Howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) Reared with *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) Pupae after Cold Storage. **Florida Entomologist**, v. 102, n. 3, p. 571- 576, 2019.

VARGAS, E. L.; PEREIRA, F. F.; CALADO, V. R. F.; GLAESER, D. F.; RODRIGUES, B. A. C.; SILVA, N. V. Densidade de fêmeas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) por pupa de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Sitientibus Série Ciências Biológicas**, v. 13, n. 1, p. 1-7, 2014.

CAPÍTULO III

SELETIVIDADE DE INSETICIDAS A *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO AMPLIADO

RESUMO: O manejo de insetos-praga por meio da aplicação de inseticidas químicos sintéticos, tem sido uma estratégia eficaz, porém a utilização inadequada, ocasiona severos problemas aos insetos não alvos. O objetivo foi avaliar a seletividade de inseticidas sobre adultos de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae), utilizando o sistema ASPECLE (Avaliação da Seletividade de Pesticidas em Condições de Laboratório Estendido). Para a realização dos testes, utilizou-se recomendações da International Organisation for Biological and Integrated Control of Integrated Control of Noxious Animals and Plants (IOBC/WPRS). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), constituído de 12 tratamentos (Água (testemunha negativa), acefato (testemunha positiva), metomil + novalurom, óleo mineral (0,5%), *Bacillus thuringiensis*, *B. thuringiensis* + óleo mineral (0,2%), flubendiamida, novalurom, teflubenzurom, teflubenzurom + óleo mineral (0,5%), teflubenzurom superdose, teflubenzurom superdose + óleo mineral (0,5%)) em 10 repetições. Dez fêmeas de *T. howardi* com 24 horas de idade foram acondicionadas no interior de gaiolas de exposição, contendo folhas de soja, previamente pulverizadas com inseticidas. A mortalidade dos parasitoides foi observada a cada 24 horas por sete dias. Foram elaboradas curvas de sobrevivência, aplicando o método de Kaplan-Meier, utilizando o software SAS (Proc Lifetest), sendo os pares de curvas comparadas pelo teste Log-Rank a 5% de probabilidade. Os inseticidas Acefato e Metomil + Novalurom são nocivos a fêmeas adultas de *T. howardi*, sendo considerados não seletivos, em condição simulada de semi-campo. Óleo mineral, *B. thuringiensis*, *B. thuringiensis* + Óleo mineral (0,2%), Flubendiamida, Novalurom, Teflubenzurom, Teflubenzurom + Óleo mineral (0,5%), Teflubenzurom Superdose, Teflubenzurom Superdose + Óleo mineral (0,5%) são inócuos a fêmeas adultas do parasitoide *T. howardi*, sendo seletivos nas condições avaliadas.

Palavras-chave: Pesticidas; Controle Biológico; Sistema ASPECLE; Parasitoides.

**INSECTICIDES SELECTIVITY *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893)
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) IN EXPANDED LABORATORY
CONDITIONS**

ABSTRACT: The management of insect pests through the application of synthetic chemical insecticides has been an effective strategy, but inadequate use causes severe problems for non-target insects. The objective was to evaluate the selectivity of insecticides on adults of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) using the ASPECLE system (Assessment of Pesticides Selectivity in Extended Laboratory Conditions). To carry out the tests, we used the recommendations of the International Organisation for Biological and Integrated Control of Integrated Control of Noxious Animals and Plants (IOBC/WPRS). The experimental design was completely randomized (DIC), consisting of 12 treatments (Water (negative control), acephate (positive control), methomyl + novaluron, mineral oil (0.5%), *Bacillus thuringiensis*, *B. thuringiensis* + mineral oil (0.2%), flubendiamide, novaluron, teflubenzuron, teflubenzuron + mineral oil (0.5%), superdose teflubenzuron, superdose teflubenzuron + mineral oil (0.5%)) in 10 repetitions. Ten females of *T. howardi* with 24 hours of age were placed inside exhibition cages, containing soybean leaves, previously sprayed with insecticides. Mortality of parasitoids was observed every 24 hours for seven days. Survival curves were prepared, applying the Kaplan-Meier method, using the SAS software (Proc Lifetest), and the pairs of curves were compared using the Log-Rank test at 5% probability. The insecticides Acefato and Methomyl + Novalurom are noxious to adult females of *T. howardi*, being considered non-selective in simulated semifield conditions. Mineral oil, *B. thuringiensis*, *B. thuringiensis* + Mineral oil (0.2%), Flubendiamide, Novalurom, Teflubenzuron, Teflubenzuron + Mineral oil (0.5%), Teflubenzuron Superdose, Teflubenzuron Superdose + Mineral oil (0.5%) are innocuous to adult females of the parasitoid *T. howardi*, being selective under the conditions evaluated.

Key-words: Pesticides; Biological control; ASPECLE system; Parasitoids.

1 INTRODUÇÃO

O controle de insetos-praga por meio da aplicação de inseticidas químicos sintéticos, tem sido uma estratégia eficaz, porém, o uso indiscriminado e indevido desses inseticidas pode acarretar em problemas de saúde pública, contaminação do ambiente, desequilíbrio do agroecossistema e a supressão de inimigos naturais (RAHMAN et al., 2016; BARBOSA et al., 2018).

Os inimigos naturais são de grande importância ecológica, sendo atribuído a eles, o controle de insetos-praga (KORRAT et al., 2019). No entanto, a utilização de inseticidas não seletivos é capaz de prejudicar os insetos benéficos, levando estes à morte, e também impactar nas características fisiológicas como a fecundidade, a razão sexual, a longevidade de machos e de fêmeas e o desenvolvimento assim como nas características comportamentais como orientação, escolha de local para oviposição, mobilidade e hospedagem (SABER; ABEDI, 2013).

Dentre os inseticidas utilizados no sistema agrícola, constam aqueles considerados seletivos, que são de baixa toxicidade aos agentes de controle biológico, sendo nocivos apenas às populações de pragas (MACHADO et al. 2019). Neste contexto, testes de seletividade de inseticidas aos inimigos naturais, são imprescindíveis para demonstrar os reais impactos desses produtos sobre esses agentes (TORRES; BUENO, 2018; CASTILHOS et al., 2019).

Para as metodologias de avaliação da seletividade de inseticidas, a IOBC/WPRS (International Organisation for Biological and Integrated Control of Integrated Control of Noxious Animals and Plants) designou critérios de avaliação em laboratórios, semi-campo e campo, para determinar a ecotoxicologia dos defensivos agrícolas utilizados para controlar os insetos-praga (CASTILHOS et al., 2019).

Assim, a procura por parâmetros de controle alternativos direcionados ao manejo integrado de pragas (MIP), vem sendo desenvolvida através do controle biológico com parasitoides (OLIVEIRA et al., 2018; PEREIRA et al. 2019; FAVORETO et al., 2021).

No controle biológico de insetos-praga, tem-se a utilização de parasitoides responsáveis pela manutenção do equilíbrio de seus hospedeiros assim como limitando danos provocados pelas pragas agrícolas, ajudando a mantê-las abaixo do nível de dano econômico (DEGRANDE et al., 2002).

Tetrastichus howardi (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) é endoparasitoide, gregário, primário e polífago de lagartas e pupas de diversos lepidópteros-praga em culturas agrícolas com ampla distribuição geográfica (PEREIRA et al., 2015; BARBOSA, et al., 2019; TANG et al., 2019).

A seletividade pode ser salientada em ecológica, sendo alcançada por meio do manejo e aplicação de inseticidas, distinção de comportamento ou habitat dos insetos, ocorrendo o contato do inseticidas com os insetos-praga e não prejudicando os inimigos naturais, e seletividade fisiológica, no qual o sistema enzimático do parasitoide degrada o composto tóxico mais eficientemente ou através da atenuação da assimilação dos inseticidas ao tegumento, prescrevendo uma tolerância maior do parasitoide ao produto do que a praga (PEDIGO, 1988; DEGRANDE et al., 2002).

Dentre os testes de seletividade, Miranda (2010) desenvolveu o sistema ASPECLE (Avaliação da Seletividade de Pesticidas em Condições de Laboratório Estendido) que otimiza a realização dos testes, pois une as condições de laboratório e semicampo em um só teste.

Desta forma, o controle de insetos-praga, manejado adequadamente com inseticidas seletivos aos inimigos naturais, reduz as chances de problemas como uso inadequado de inseticidas, resistência cruzada e pressão de seleção. Portanto, o objetivo foi avaliar a seletividade de diferentes inseticidas utilizados na cultura da soja, sobre fêmeas adultas de *T. howardi* em condições de semicampo, utilizando o sistema ASPECLE.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Localização do experimento

A multiplicação dos insetos e o ensaio experimental foram conduzidos no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) (22° 11'56,56" S, 54° 56' 1,396" W) pertencente a Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) no município de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil em salas climatizadas à $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa (UR) de $70 \pm 20\%$ e fotoperíodo de 14 horas.

2.2 Semeadura de Soja

Para a realização dos experimentos, vasos plásticos com capacidade de 7 litros foram preenchidos com um substrato nas proporções de 2/3 de solo e 1/3 de matéria orgânica onde foram utilizados para serem semeados com a cultivar “BRS 284” de soja [*Glycine max* (L.) Merrill]. Os vasos permaneceram em casa de vegetação e, irrigados a cada 2 dias, obtendo-se material vegetal livre de resíduos de produtos fitossanitários. Após as plantas de soja atingirem o estágio fenológico V4 (onde terceira folha trifoliolada completamente desenvolvida, com seus folíolos expandidos, 4 nós e a quarta folha trifoliolada, com bordos não mais se tocando), as plantas foram utilizadas nos experimentos.

2.3 Sistema ASPECLE

O teste foi realizado utilizando o “Sistema ASPECLE - Avaliação da Seletividade de Pesticidas em Condições de Laboratório Estendido” no LECOBIOL. O sistema compõe-se de grupos de gaiolas de exposição, conectadas por mangueiras a um tubo central de ventilação, no qual é conectada uma mangueira proveniente de uma bomba de vácuo, responsável pela sucção dos gases tóxicos contidos nas gaiolas de exposição (ANEXO 10).

As extremidades das gaiolas de exposição foram lacradas com tecido “voil” presas por uma tampa plástica, sendo um lado da extremidade conectado ao tubo central e a outra extremidade usada para a introdução do parasitoide (ANEXO 11) (Adaptado MIRANDA, 2010; SANOMIA et al., 2020).

Os inseticidas foram classificados pela escala de notas toxicológicas definida por Hassan (1997, citada por Degrande et al., 2002), sendo nota toxicológica 1= Inócuo < 25% de redução na população de inimigos naturais; nota 2= Levemente nocivo sendo 25-50% de redução na população de inimigos naturais; nota toxicológica 3= Moderadamente nocivo sendo 51 - 75% de redução na população de inimigos naturais e; nota 4= Nocivo > 75% de redução na população de inimigos naturais (ANEXO 12).

2.4 Inseticidas utilizados no experimento

Para a realização dos testes seguiu-se as orientações metodológicas recomendadas pela IOBC/WPRS (International Organisation for Biological and Integrated Control of Integrated Control of Noxious Animals and Plants) (HASSAN, 1992). Os inseticidas utilizados foram: Acefato Nortox[®] (acefato 449,99 g i. a. ha⁻¹) (testemunha positiva), Voraz[®] (metomil 293,04 g i. a. ha⁻¹ + novalurom 23,31 g i. a. ha⁻¹), Assist[®] (0,2 % e 0,5 %) (Óleo mineral 302,4 g i. a. ha⁻¹ e 756 g i. a. ha⁻¹), Dipel WP[®] (*Bacillus thuringiensis* 16 g i. a. ha⁻¹), Belt[®] (flubendiamida 67,2 g i. a. ha⁻¹), Rimon[®] (novalurom 15 g i. a. ha⁻¹), Nomolt[®] 150 (teflubenzurom 30 g i. a. ha⁻¹ e 52,5 g i. a. ha⁻¹), sendo estes recomendados para o controle de *Chrysodeixis includens* na cultura da soja (AGROFIT, 2021). Água foi considerada testemunha negativa.

A escolha dos inseticidas foi baseada na frequência de uso para o controle de *C. includens* e pela diferença entre grupos químicos, biológicos e, misturas de inseticidas prontas, sempre na maior dose recomendada (Quadro 1).

Quadro 1. Principais inseticidas sintéticos, biológicos e misturas de inseticidas prontas para uso recomendados para o controle de *Chrysodeixis includens* na cultura da soja segundo AGROFIT (2021)

Nome Comercial	Ingrediente Ativo	Dosagem máxima do produto*	Concentração do Ingrediente Ativo (i. a.)
Acefato Nortox [®]	Acefato	666 g ha ⁻¹	449,99 g ha ⁻¹
Voraz [®]	Metomil + Novalurom	666 mL ha ⁻¹	293,04 g ha ⁻¹ + 23,31 g ha ⁻¹
Assist [®] (0,5 %)	Óleo mineral	1000 mL ha ⁻¹	756 g ha ⁻¹
Dipel WP [®]	<i>Bacillus thuringiensis</i>	500 g ha ⁻¹	16 g ha ⁻¹
Dipel WP [®] + Assist [®] (0,2%)	<i>Bacillus thuringiensis</i> + Óleo mineral	500 g ha ⁻¹ + 400 mL ha ⁻¹	16 g ha ⁻¹ + 302,4 g ha ⁻¹
Belt [®]	Flubendiamida	140 mL ha ⁻¹	67,2 g ha ⁻¹
Rimon [®]	Novalurom	150 mL ha ⁻¹	15 g ha ⁻¹
Nomolt [®] 150	Teflubenzurom	200 mL ha ⁻¹	30 g ha ⁻¹
Nomolt [®] 150 + Assist [®] (0,5%)	Teflubenzurom + Óleo mineral	200 mL ha ⁻¹ + 1000 mL ha ⁻¹	30 g ha ⁻¹ + 756 g ha ⁻¹
Nomolt [®] 150 Superdose	Teflubenzurom	350 mL ha ⁻¹	52,5 g ha ⁻¹
Nomolt [®] 150 Superdose + Assist [®] (0,5%)	Teflubenzurom + Óleo mineral	350 mL ha ⁻¹ + 1000 mL ha ⁻¹	52,5 g ha ⁻¹ + 756 g ha ⁻¹

*Dosagem máxima do produto em volume de calda 200 l ha⁻¹

2.5 Obtenção, criação e manutenção de *Tetrastichus howardi*

A produção do parasitoide *T. howardi* iniciou-se a partir de uma criação já estabelecida no LECOBIO. A criação iniciou-se com fêmeas adultas do parasitoide com 24 horas de idade, após a copula com os parasitoides machos.

Os parasitoides foram introduzidos em tubos (2,5 cm de diâmetro x 8,5 cm de comprimento) em grupos de cinco indivíduos fêmeas, simultaneamente com uma pupa de *Chrysodeixis includens* com idade de 24 a 48 horas, sendo a abertura do tubo vedado com algodão. Uma gotícula de mel puro introduzida na parede interna dos tubos serviu como alimento para as fêmeas do parasitoides (Adaptado BARBOSA et al., 2019).

A determinação do sexo foi realizada de acordo com o dimorfismo das antenas de *T. howardi* no qual, antenas das fêmeas possuem três segmentos funiculares de coloração escura e escapo sem placa sensorial na margem ventral. A antena dos machos denota quatro segmentos, tendo apenas a clava de coloração escura e o escapo exibe uma placa sensorial na margem ventral (ANEXO 7) (LA SALLE; POLASZEK, 2007).

O parasitismo foi permitido por 24 horas, após esse período, estas fêmeas parasitoides foram retiradas, permanecendo somente as pupas, até a emergência (cerca de 17 dias) dos novos parasitoides adultos, retomando o ciclo de criação do parasitoide (ANEXO 8).

2.6 Teste de mortalidade de *Tetrastichus howardi* a inseticidas por 24 ou 168 horas utilizando o sistema ASPECLE

Para a realização do teste, plantas de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] no estágio fenológico V4 mantidas em vasos plásticos foram expostas a pulverização dos inseticidas (Quadro 1) utilizando um pulverizador manual de pressão (Brudden Pratical 2000®). Após a aplicação dos produtos, os vasos foram deixados secando ao ar livre, por cerca de 2 horas.

Logo após, as folhas foram destacadas, identificadas com seus respectivos tratamentos e alocadas no interior das gaiolas de exposição do sistema ASPECLE, de forma a aderir a parede das gaiolas de exposição (ANEXO 11) (Adaptado SANOMIA et al., 2020; MIRANDA, 2010).

Posteriormente, 10 fêmeas de *T. howardi* com até 24 horas de idade (período para ocorrência da copula e viabilidade do ovário das fêmeas) foram introduzidas no

interior de cada gaiola de exposição juntamente com um chumaço de algodão embebido em água, para manter a umidade no interior das gaiolas e para fornecimento de água aos parasitoides. Assim, um total de 100 fêmeas do parasitoide, para cada tratamento, foram monitoradas por 24 ou 168 horas (registradas em intervalos de 24 horas), sendo a mortalidade observada por meio da contagem dos indivíduos mortos, dentro de cada gaiola de exposição.

A determinação da mortalidade natural de *C. includens* foi realizada por meio de 50 pupas alocadas individualmente em potes plásticos de 100 mL, sendo contabilizado o número de adultos emergidos. Assim a mortalidade natural do hospedeiro foi definida pela fórmula de Abbott $Mc (\%) = (\%Mo - \%Mt) / (100 - \%Mt) \times 100$, em que Mc = mortalidade corrigida; Mo = mortalidade observada e Mt = mortalidade na testemunha (ABBOTT, 1925).

2.7 Delineamento experimental e análises estatísticas

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), constituído de 12 tratamentos (Quadro 1) com 10 repetições sendo cada grupo de 10 fêmeas de *T. howardi*, uma repetição.

Os dados do teste de mortalidade de *T. howardi* expostos a diferentes inseticidas por 24 horas foram submetidos a análise de variância (ANOVA), e as médias quando significativas, submetidas ao teste de Tukey a 5 % de probabilidade. O software empregado na análise estatística foi o SASM-Agri.

Para o teste de mortalidade de *T. howardi* expostos a diferentes inseticidas por 168 horas, a partir do número de parasitoides sobreviventes, nos intervalos de avaliação, foram confeccionadas curvas de sobrevivência aplicando o método de Kaplan-Meier (KLEINBAUM; KLEIN, 2012), utilizando o software SAS (Proc Lifetest) (SAS Institute 2002), sendo comparadas por pares de curvas pelo teste de Log-Rank a 5 % de probabilidade.

3 RESULTADOS

As maiores taxas de mortalidade (100,0 e 90,8%) de fêmeas adultas de *Tetrastichus howardi*, quando expostas aos resíduos dos inseticidas por 24 horas, foram observadas no tratamento constituído por metomil + novalurom e, na testemunha positiva acefato (Quadro 1). Para os demais tratamentos, não foi observada mortalidade após a exposição das fêmeas adultas de *T. howardi* aos resíduos (Quadro 2).

Quadro 2. Mortalidade corrigida (%) (média \pm erro padrão) de fêmeas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) expostas, por 24 horas, aos resíduos de inseticidas sintéticos, biológicos e misturas de inseticidas prontas para uso, utilizando o sistema ASPECLE. $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 20\%$ e fotofase de 14 horas. Dourados-MS, 2021

Tratamentos	Grupo químico	Mortalidade corrigida* (%)	Classe de toxicidade ¹
Água	-	0,00 \pm 0,00a	-
Acefato	Organofosforado	90,80 \pm 0,13b	4
Metomil + Novalurom	Metilcarbamato de oxima + Benzoiluréia	100,00 \pm 0,00b	4
Óleo mineral	Hidrocarbonetos alifáticos	0,00 \pm 0,00a	1
<i>Bacillus thuringiensis</i>	Bacillus	0,00 \pm 0,00a	1
<i>Bacillus thuringiensis</i> + Óleo mineral	Bacillus / hidrocarbonetos alifáticos	0,00 \pm 0,00a	1
Flubendiamida	Diamida do ácido ftálico	0,00 \pm 0,00a	1
Novalurom	Benzoiluréia	0,00 \pm 0,00a	1
Teflubenzurom	Benzoiluréia	0,00 \pm 0,00a	1
Teflubenzurom + Óleo mineral	Benzoiluréia / Hidrocarbonetos alifáticos	0,00 \pm 0,00a	1
Teflubenzurom Superdose	Benzoiluréia	0,00 \pm 0,00a	1
Teflubenzurom Superdose + Óleo mineral	Benzoiluréia / Hidrocarbonetos alifáticos	0,00 \pm 0,00a	1
CV (%) = 1,36			

Médias seguidas pela mesma letra (minúscula) na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,01$);
¹Classes de toxicidade: 1, inócuo (< 25%); 2, levemente nocivo (25 – 50%); 3, moderadamente nocivo (51 – 75%); e 4, nocivo (> 75%). EP= erro padrão. *Dados transformados $\sqrt{X + 1}$.

Acefato e metomil + novalurom receberam nota toxicológica 4, sendo considerados nocivos para fêmeas adultas de *T. howardi*, quando em condição de laboratório ampliado. Enquanto que os demais inseticidas foram classificados como inócuos, recebendo nota toxicológica 1 da escala de notas toxicológicas definida por Hassan (1997), e citada por Degrande et al. (2002) (ANEXO 12) (Quadro 2).

A sobrevivência das fêmeas adultas de *T. howardi* em função dos intervalos de avaliação, expostas aos resíduos de inseticidas ocasionou a morte das fêmeas do parasitoide já nas primeiras 24 horas, já para os demais tratamentos houve um padrão ($\chi^2= 1013.0925$; G. L.= 11; $P < 0,0001$) (Figura 1).

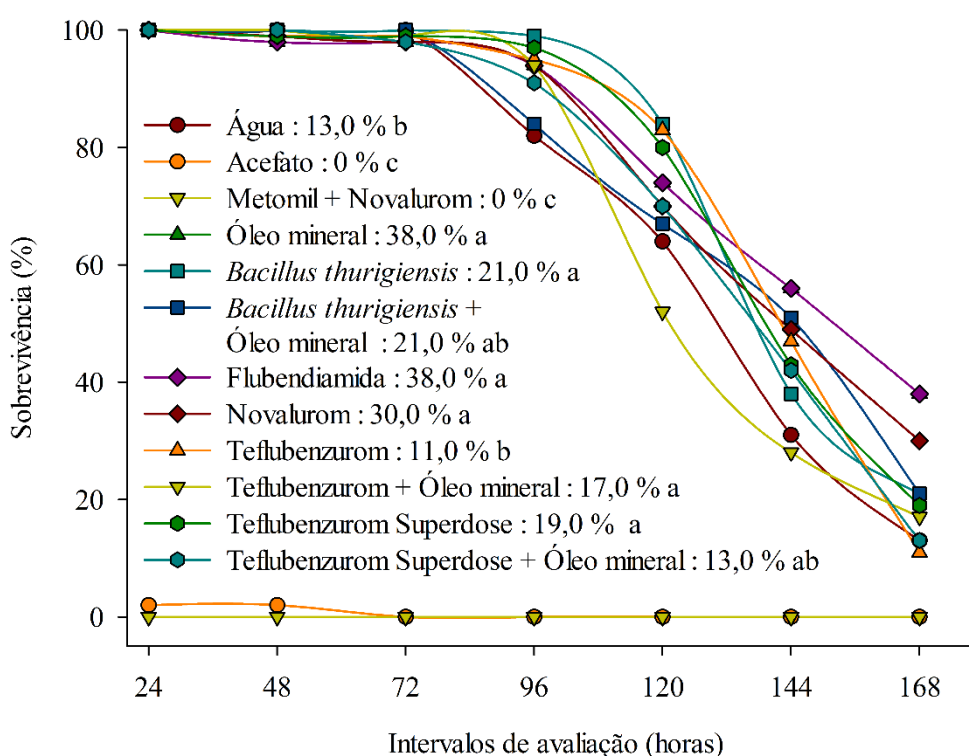


Figura 1. Sobrevivência (%) de fêmeas de *Tetrastichus howardi* exposta a resíduos de inseticidas sintéticos, biológicos e misturas de inseticidas prontas para uso, em função dos intervalos de avaliação após 168 horas de confinamento, utilizando o sistema ASPECLE. Os valores representam a média final de sobrevivência após 168h

Acefato e metomil + novalurom ocasionaram rápida mortalidade de *T. howardi* já no intervalo de avaliação de 0 a 24 horas resultando na média (horas) de 25.6 ± 0.58 e 24.0 ± 0.00 respectivamente (Figura 1) e finalizando as avaliações (168 horas) com média final de sobrevivência 0,0%, diferenciando-se dos demais tratamentos, sendo não seletivos ao parasitoide (Figura 1).

Ao analisar a taxa de sobrevivência das fêmeas adultas de *T. howardi*, quando expostas aos resíduos dos inseticidas, no final do intervalo de avaliação (168 horas), observa-se a sobrevivência de 38,0% para óleo mineral e flubendiamida, 21,0 % para *B. thuringiensis* e *B. thuringiensis* + óleo mineral (0,2%), 30,0% para o novalurom, 17,0% para o teflubenzurom + óleo mineral (0,5%), 19,0% teflubenzurom superdose e 13,0% para o teflubenzurom superdose + óleo mineral (0,5%), não existindo diferença significativa entre os tratamentos (Figura 1).

No entanto, a sobrevivência entre os tratamentos *B. thuringiensis* + óleo mineral (0,2 %), teflubenzurom e teflubenzurom superdose + óleo mineral (0,5 %), e a testemunha água, foi de 21,0; 11,0; 13,0 e 13,0 % respectivamente, não ocorrendo diferenciação entre estes tratamentos e a testemunha negativa no período de 168 horas (Figura 1).

Contudo, vale ressaltar que os tratamentos óleo mineral e flubendiamida, apresentaram a maior taxa de sobrevivência entre os tratamentos testados, incluindo a testemunha negativa água (Figura 1).

Assim, o resultado demonstram que os inseticidas acefato e metomil + novalurom, causaram a morte quase imediata das fêmeas do parasitoide de *T. howardi* demonstrando efeito de choque. Já os demais inseticidas (óleo mineral, *B. thuringiensis*, *B. thuringiensis* + óleo mineral (0,2 %), flubendiamida, novalurom, teflubenzurom, teflubenzurom + óleo mineral (0,5 %), teflubenzurom superdose, teflubenzurom superdose + óleo mineral (0,5 %)) não apresentaram efeitos tóxicos sobre as fêmeas deste parasitoide.

4 DISCUSSÃO

O emprego do controle biológico aplicado é uma ferramenta fundamental dentro do manejo integrado de pragas, junto com o uso de inseticidas seletivos aos parasitoides (ZANTEDESCHI et al., 2018). *Bacillus thuringiensis*, individualizado ou misturado ao óleo mineral (0,2%), flubendiamida, novalurom, teflubenzurom, teflubenzurom + óleo mineral (0,5%), teflubenzurom superdose, teflubenzurom superdose + óleo mineral (0,5%) e óleo mineral não afetaram *T. howardi*. No entanto, no final do período de exposição (168 horas), teflubenzurom causou mortalidade de *T. howardi*.

Estudos direcionados à seletividade de inseticidas ao parasitoide *Ooencyrtus submetallicus* (Howard, 1897) (Hymenoptera: Encyrtidae), evidenciaram a seletividade de teflubenzurom (SANOMIA et al., 2020). Geralmente, inseticidas que agem na ecdise, inibindo o desenvolvimento dos insetos, como novalurom e teflubenzurom, são inócuos aos inimigos naturais adultos, por atuarem na fase de crescimento e desenvolvimento dos insetos (REYNOLDS, 1987).

As flubendiamidas, do grupo químico das diamidas, agem sobre o sistema muscular dos insetos sendo consideradas tóxicas somente para insetos-alvo na maioria das vezes, desta forma apresentando-se inócuas a uma gama de insetos benéficos (LAHM et al., 2009).

Inseticidas microbiológicos à base de *B. thuringiensis* normalmente apresentam baixa toxicidade a ácaros, coleópteros, dípteros, hemípteros e himenópteros adultos (ZANTEDESCHI et al., 2018; GALZER; AZEVEDO FILHO, 2016). A inocuidade de *B. thuringiensis* a himenópteros adultos está relacionada ao modo de ação do *B. thuringiensis*, uma vez que as toxinas dessas bactérias são ativadas quando em contato com o trato digestivo do inseto (NASCIMENTO et al., 2018; MOREIRA et al., 2012). Porém, *B. thuringiensis*, quando aplicado junto a outros compostos como óleo mineral, pode causar mortalidade, não pela ação direta do *Bt*, mas por induzir a adesão de asas, antenas e pernas ao corpo do parasitoide (BRUNNER et al., 2001). O uso de óleo mineral também pode ter um efeito sinérgico com o inseticida levando uma maior penetração do inseticida pela cutícula do inseto (GUEDES et al., 1995). Entretanto, o uso de óleo mineral não apresentou efeito tóxico sobre os parasitoides adultos de *T. howardi* nas

primeiras 24 horas, também não apresentou efeito tóxico para o parasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) (BELOTI et al., 2017).

Os inseticidas acefato e metomil + novalurom apresentaram-se tóxicos a fêmeas adultas de *T. howardi* nas primeiras 24 horas, causando mortalidade de todos os indivíduos. Estes inseticidas apresentam rápida ação sobre o sistema nervoso, levando à morte dos insetos (SHANKARGANESH et al., 2017; SANTOS et al., 2007).

Este é o primeiro estudo a demonstrar a ação seletiva de diferentes inseticidas sobre fêmeas adultas de *T. howardi* em condições de semicampo, utilizando o sistema ASPECLE. No entanto, os inseticidas considerados tóxicos nas condições simuladas de semicampo, devem-se realizar novos testes em condições de campo, pois devido a degradação de suas moléculas, os inseticidas podem ter baixo efeito sobre os parasitoides. Desta forma, os conhecimentos adquiridos neste estudo, pode ser empregado em programas de controle biológico, com o intuito do parasitoide exercer sua atividade sobre populações do inseto-praga. Além de determinar a inocuidade dos inseticidas, pode-se definir as características biológicas do parasitoide diante de cada inseticida.

5 CONCLUSÕES

Os inseticidas acefato e metomil + novalurom são nocivos às fêmeas adultas do parasitoide *Tetrastichus howardi*, atribuindo-lhes classificação de não seletivos, em condição de semi-campo, utilizando o sistema ASPECLE.

Óleo mineral, *Bacillus thuringiensis*, *B. thuringiensis* + óleo mineral (0,2%), flubendiamida, novalurom, teflubenzurom, teflubenzurom + óleo mineral (0,5%), teflubenzurom superdose, teflubenzurom superdose + óleo mineral (0,5%) são inócuos e, portanto, seletivos a fêmeas adultas de *T. howardi*, em condição de semicampo, utilizando o sistema ASPECLE.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGROFIT. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. 2021. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso: 11 de Agosto de 2021.
- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal Economy Entomology**, v. 18, n. 2, p. 265-267, 1925.
- BARBOSA, M. S.; DIAS, B. B.; SANTANA, M. S.; VIEIRA, G. H. C.; Applying plant oils to control fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in corn. **Australian Journal of Crop Science**, Australia-AUS, v. 12, n. 4, p. 557-562, 2018.
- BARBOSA, R. H.; PEREIRA, F. F.; MOTOMIYA, A. V. A.; KASSAB, S. O.; ROSSONI, C.; TORRES, J. B.; MUSSURY, R. M.; PASTORI, P. L. *Tetrastichus howardi* density and dispersal toward augmentation biological control of sugarcane borer. **Neotropical Entomology**, v. 48, n. 2, p. 323-331, 2019.
- BELOTI, V. H.; ALVES, G. R.; MORAL, R. A.; DEMÉTRIO, C. G. B.; YAMAMOTO, P. T. Acute toxicity of fresh and aged residues of pesticides to the parasitoid *Tamarixia radiata* and to the HLB-bacteria vector *Diaphorina citri*. **Neotropical Entomology**, v. 47, n. 3, p. 403-411, 2017.
- BRUNNER, J. F.; DUNLEY, J. E.; DOERR, M. D.; BEERS, E. H. Effect of Pesticides on *Colpoclypeus florus* (Hymenoptera: Eulophidae) and *Trichogramma platneri* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), Parasitoids of Leafrollers in Washington. **Journal of Economic Entomology**, v. 94, n. 5, p. 1075–1084, 2001.
- CASTILHOS, R. V.; GRÜTZMACHER, A. D.; KRÜGER, L. R.; SIQUEIRA, P. R. B.; MORAES, I. L. D. Persistência de inseticidas utilizados em pessegueiro sobre larvas e adultos do predador *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 86, n. 1, p. 1-8, 2019.
- DEGRANDE, P. E.; REIS, P. R.; CARVALHO, G. A.; BELARMINDO, L. C. Metodologia para avaliar o impacto de pesticidas sobre inimigos naturais. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. **Controle Biológico no Brasil**. São Paulo: Manole, p.71-94, 2002.
- FAVORETO, A. L.; PAVANI, R. F.; RIBEIRO, M. F.; ZANUNCIO, A. J. V.; SOARES, M. A.; ZANUNCIO, J. C.; WILCKEN, C. F. *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae): first report of parasitism in *Oxydia vesulia* (Lepidoptera: Geometridae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 81, n. 2, p. 406 – 410, 2021.
- GALZER, E. C. W.; AZEVEDO FILHO, W. S. Utilização do *Bacillus thuringiensis* no controle biológico de pragas. **Revista Interdisciplinar de Ciência Aplicada**, v. 1, n. 1, p.13-16, 2016.

GUEDES, R. N. C.; PICANÇO, M. C.; GUEDES, N. M. P.; MEDEIRA, N. R. Sinergismo do óleo mineral sobre a toxicidade de inseticidas para *Scrobipalpus absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, n. 3, p. 313-318, 1995.

HASSAN, S. A. **Guidelines for testing the effects of pesticides on beneficial organisms: description of test methods**. Montfavet: The Organization, 186 p. 1992.

KORRAT, R. A. A.; AHMED, S. A.; BADR, N. F. The Potential Side Effects of Certain Insecticide Formulations on the Green Lacewing, *Chrysoperla carnea* (Stephens). **Journal of Plant Protection and Pathology**, v.10, n. 12, p. 605 - 612, 2019.

LA SALLE, J.; POLASZEK, A. Afrotropical species of the *Tetrastichus howardi* species group (Hymenoptera: Eulophidae). **African Entomology**, Washington-DC, v. 15, n. 1, p. 45-56, 2007.

LAHM, G. P.; CORDOVA, D.; BARRY, J. D. New and selective ryanodine receptor activators for insect control. **Bioorganic & Medicinal Chemistry letters**, v. 17, n. 12, p. 4127 – 4133, 2009.

MACHADO, A. V. A.; POTIN, D. M.; TORRES, J. B.; TORRES, C. S. A. S. Selective insecticides secure natural enemies action in cotton pest management. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 184, n. 1, p. 1 - 11, 2019.

MIRANDA, G. A. S. **Padronização de metodologia para avaliar a seletividade de pesticidas sobre parasitoides de ovos**. 2010. 58p. Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) – Universidade Federal da Grande Dourados- UFGD, 2010.

MOREIRA, M. F.; MANSUR, J. F.; MANSUR-FIGUEIRA, J. Resistência e inseticidas: estratégias, desafios e perspectivas no controle de insetos. **Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular**, Itabajara da Silva Vaz Junior, p. 1-23, 2012.

NASCIMENTO, P. T.; FADINI, M. A. M.; VALICENTE, F. H.; RIBEIRO, P. E. A. Does *Bacillus thuringiensis* have adverse effects on the host egg location by parasitoid wasps? **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 62, n. 4, p. 260 - 266, 2018.

NOGUEIRA, A. P. O.; SEDYAMA, T.; SOUSA, L. B.; HAMAWAKI, O. T.; CRUZ, C. D.; PEREIRA, D. G.; MATSUO, E. Análise de trilha e correlações entre caracteres em soja cultivada em duas épocas de semeadura. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 6, p. 877 - 888, 2012.

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. Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) with Different Densities and Parasitism Periods in *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) Pupae. **Folia Biologica (Krakow)**, v. 66, n. 3, p. 103 - 110, 2018.

PEDIGO, L. P. **Entomology and Pest Management**. New York-USA: Macmillan, p.646. 1988.

- PEREIRA, K. D. S.; CHEDIK, M.; ZANUNCIO, J. C.; GUEDES, R. N. C. Chlorantraniliprole impact on survival and progeny quality of the pupa of the parasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). **Canadian Entomologist**, v. 151, n. 1, p. 94 - 100, 2019.
- PEREIRA, P. F.; KASSAB, S. O.; CALADO, V. R. F.; VARGAS, E. L.; OLIVEIRA, H. N.; ZANUNCIO, J. C. Parasitism and Emergence of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) Larvae, Pupae and Adults. **Florida Entomologist**, v. 98, n. 1, p. 377 - 380, 2015.
- RAHMAN, S.; BISWAS, S. K.; BARMAN, N. C.; FERDOUS, T. Plant Extract as Selective Pesticide for Integrated Pest Management. **Biotechnological Research**, v. 2, n. 6, p. 6-10, 2016.
- REYNOLDS, S. E. The cuticle, growth regulators and moulting in insects: the essential background to the action of acylurea insecticides. **Pesticide Science**, v. 20, n. 2, p. 131 – 146, 1987.
- SABER, M.; ABEDI, Z. Effects of methoxyfenozide and pyridalyl on the larval ectoparasitoid *Habrobracon hebetor*. **Journal of Pest Science**, v. 86, n. 4, p. 685-693, 2013.
- SANOMIA, W. Y.; PEREIRA, F. F.; SILVA, I. F. Insecticide selectivity to *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) under extended laboratory conditions. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 50, n. 1, p. 1 – 8, 2020.
- SANTOS, V. M. R.; DONNICI, C. L.; DA COSTA, J. B. N.; CAIXEIRO, J. M. R. Compostos organofosforados pentavalentes: histórico, métodos sintéticos de preparação e aplicações como inseticidas e agentes antitumorais. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 159 - 170, 2007.
- SHANKARGANESH, K. PAUL, B.; NAVEEN, N. C. Eco-toxicological effect of insecticides on the larval parasitoid, *Bracon brevicornis* Wesmael (Hymenoptera: Braconidae). **African Entomology**, v. 25, n. 2, p. 367 - 374, 2017.
- TANG, B. Z.; MENG, E.; ZANG, H. J.; ZANG, X. M.; ASGARI, S.; LIN, Y. P.; LIN, Y. Y.; PENG, Z. Q.; QIAO, T. ZHANG, X. F.; HOU, Y. M. Combination of label-free quantitative proteomics and transcriptomics reveals intraspecific venom variation between the two strains of *Tetrastichus brontispae*, a parasitoid of two invasive beetles. **Journal of Proteomics**, v. 192, n. 1, p. 37 - 53, 2019.
- TORRES, J. B.; BUENO, A. F. Conservation biological control using selective insecticides – a valuable tool for IPM. **Biological Control**, v. 126, n.1, p. 53 - 64, 2018.
- ZANTEDESCHI, R.; GRUTZMACHER, A. D.; PAZINI, J. B.; BUENO, F. A.; MACHADO, L. L. Selectivity of pesticides registered for soybean crop on *Telenomus podisi* and *Trissolcus basalidis*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 48, n. 1, p. 52 - 58, 2018.

CAPÍTULO IV

CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DE *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) PUPAS DE *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EXPOSTOS A INSETICIDAS UTILIZANDO O SISTEMA ASPECLE

RESUMO: Dentre os lepidópteros-praga com aptidão de causar prejuízos econômicos à cultura da soja, destaca-se a *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae). Fato esse, que reforça a necessidade que medidas de manejo, além do controle químico, sejam intensificadas. Para isso, a utilização de parasitoides como o *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) é uma realidade. Portanto, o presente trabalho tem como objetivo determinar as características biológicas de *T. howardi* em pupas de *C. includens*, avaliando a seletividade de inseticidas sobre os parasitoides. A realização do teste foi conduzida através do Sistema ASPECLE de acordo com os critérios estabelecidos pela International Organisation for Biological and Integrated Control of Integrated Control of Noxious Animals and Plants. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com 12 tratamentos (Água (testemunha negativa) acefato (testemunha positiva), metomil + novalurom, óleo mineral (0,5 %), *Bacillus thuringiensis*, *B. thuringiensis* + óleo mineral (0,2 %), flubendiamida, novalurom, teflubenzurom, teflubenzurom + óleo mineral (0,5 %), teflubenzurom superdose, teflubenzurom superdose + óleo mineral (0,5%), sendo cinco fêmeas de *T. howardi* por uma pupa, com 10 repetições. Este trabalho registra pela primeira vez, as características biológicas de *T. howardi* em pupas de *C. includens* em condições de laboratório. Os inseticidas acefato e metomil + novalurom, interferiam negativamente nas características biológicas das fêmeas adultas de *T. howardi* quando expostas ao parasitismo em pupas de *C. includens*, sendo atribuído a estes inseticidas como não seletivos ao parasitoide em condições de semi-campo. Os inseticidas óleo mineral, *B. thuringiensis*, *B. thuringiensis* + óleo mineral (0,2 %), flubendiamida, novalurom, teflubenzurom, teflubenzurom + óleo mineral (0,5 %), teflubenzurom superdose, teflubenzurom superdose + óleo mineral (0,5 %) não afetou as características biológicas das fêmeas adultas de *T. howardi* quando expostas ao parasitismo em pupas de *C. includens*, sendo estes considerados seletivos ao parasitoide em condições de semicampo.

Palavras-chave: Pesticidas; Controle Biológico; Laboratório ampliado; Parasitoides, Lagarta-falsa-medideira.

BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF *Tetrastichus howardi*
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) PUPAE OF *Chrysodeixis includens*
(WALKER, [1858]) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EXPOSED TO
INSECTICIDES USING THE ASPECT SYSTEM

ABSTRACT: *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae) stands out among the pest lepidopterans capable of causing economic damage to soybeans. This fact reinforces the need for management measures, in addition to chemical control, to be intensified. For this, the use of parasitoids such as *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) is a reality. Therefore, the present work aims to determine the biological characteristics of *T. howardi* in pupae of *C. includens*, evaluating the selectivity of insecticides on parasitoids. The test was carried out using the ASPECLE System according to the criteria established by the International Organization for Biological and Integrated Control of Integrated Control of Noxious Animals and Plants. The experimental design was completely randomized (DIC), with 12 treatments (Water (negative control) acephate (positive control), metomil + novalurom, mineral oil (0.5 %), *Bacillus thuringiensis*, *B. thuringiensis* + mineral oil (0.2 %), flubendiamide, novalurom, teflubenzurom, teflubenzurom + mineral oil (0.5 %), teflubenzurom overdose, teflubenzurom overdose + mineral oil (0.5 %), five females of *T. howardi* for one pupa, with 10 repetitions. This work records for the first time the biological characteristics of *T. howardi* in pupae of *C. includens* under laboratory conditions. The insecticides acephate and metomil + novalurom, interfered negatively in the biological characteristics of the adult females of *T. howardi* when exposed to parasitism in pupae of *C. includens*, being attributed to these insecticides as non-selective to the parasitoid in semifield conditions. The insecticides mineral oil, *B. thuringiensis*, *B. thuringiensis* + mineral oil (0.2 %), flubendiamide, novalurom, teflubenzurom, teflubenzurom + mineral oil (0.5 %), teflubenzurom overdose, teflubenzurom overdose + ineral oil (0.5 %) did not affect the biological characteristics of adult *T. howardi* females when exposed to parasitism in *C. includens* pupae, which are considered selective to the parasitoid in semifield conditions.

Key-words: Pesticides; Biological control; Expanded laboratory; Parasitoids, Soybean looper.

1 INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é a principal oleaginosa cultivada no Brasil, tendo a região Centro-oeste como a maior produtora do grão, destacando-se no cenário socioeconômico do país (CAMPEÃO et al., 2020; CONAB, 2021).

Dentre os lepidópteros-praga, com aptidão de causar prejuízos econômicos à cultura da soja, destaca-se a *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae), lagarta desfolhadora que atingiu o status de praga chave da cultura, ocasionando perdas significativas de produtividade caso medidas de medidas eficientes de controle não sejam adotadas (SPECHT et al., 2015; MAGALHÃES et al., 2020).

Neste contexto, táticas de manejo voltadas a utilização de inseticidas, vem sendo empregadas no controle de *C. includens* (PERINI et al., 2019). No entanto, a utilização indevida de inseticidas no controle da praga, vem provocando o desequilíbrio no agroecossistema e a supressão insetos não alvos (CARVALHO et al., 2012; BARBOSA et al., 2018).

Deste modo, a utilização de métodos voltados ao manejo integrado de pragas (MIP), vem possibilitando pesquisas direcionadas ao controle biológico através do uso de parasitoides (BARBOSA, et al. 2019; TIAGO et al., 2019; FAVORETO et al., 2021).

Dentre os parasitoides estudados, destaca-se *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae), endoparasitoide de hábito gregário que tem preferência por pupas de diferentes espécies de lepidópteros-praga de culturas importantes (PEREIRA et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2016; BARBOSA, et al., 2019). Além disso, *T. howardi* tem a capacidade benéfica de transfigurar a fisiologia e o desenvolvimento de seus hospedeiros afetando as respostas imunológicas, através da inoculação de toxinas (MENG et al., 2018; TANG et al., 2019). No entanto, o controle de pragas agrícolas por meio do controle biológico é pouco utilizado, fazendo-se necessário o uso em conjunto com inseticidas (DEGRANDE et al., 2002).

Entre os inseticidas utilizados no controle de pragas agrícolas, tem-se os inseticidas seletivos aos inimigos naturais, os quais acarretaram maior impacto sobre as populações dos insetos-praga, preservando os inimigos naturais (MACHADO et al. 2019). Enquanto, a utilização de inseticidas não seletivos e capaz de prejudicar os insetos benéficos, levando estes à morte, e também impactar nas características fisiológicas como a fecundidade, razão sexual, longevidade de machos e fêmeas e o desenvolvimento assim

como as características comportamentais como a orientação, oviposição, mobilidade e hospedagem (SABER; ABEDI, 2013).

Para a correta identificação de produtos tóxicos aos parasitoides, se faz necessário, realizar testes de seletividade, no intuito de minimizar os impactos sobre as populações dos parasitoides e ajudar o produtor na hora da escolha do inseticida a ser usado, viabilizando o controle biológico (PASINI, et al., 2017; SANOMIA et al., 2020).

Dentre esses testes, tem-se o Sistema Aspecle (Avaliação da Seletividade de Pesticidas em Condições de Laboratório Estendido) proposto por Miranda (2010), no qual cumpre o requisito de laboratório estendido (que tem como objetivo simular os danos provocados pelos inseticidas ao organismo benéfico em conjunções simuladas de campo), estabelecidos pelo IOBC/WPRS International Organization for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants, West Palaearctic Regional Section, segundo Hassan (1992).

Desse modo, o controle biológico, assim como o uso de inseticidas seletivos aos inimigos naturais, quando bem manejado, auxilia o produtor no controle das insetos-praga, assim como na redução de aplicação de inseticidas. Portanto, considerando a importância socioeconômica da soja para o Brasil, o presente trabalho tem como objetivo determinar as características biológicas de fêmeas de *T. howardi* em pupas de *C. includens*, avaliando a seletividade de inseticidas sobre os parasitoides em condições simuladas de semicampo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Localização do experimento

A multiplicação dos insetos e o ensaio experimental foram conduzidos no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) (22° 11'56,56" S, 54° 56' 1,396" W) pertencente a Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) no município de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil em salas climatizadas à $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa (UR) de $70 \pm 20\%$ e fotoperíodo de 14 horas.

2.2 Semeadura de Soja

Para a realização dos experimentos, vasos plásticos com capacidade de 7 litros foram preenchidos com um substrato nas proporções de 2/3 de solo e 1/3 de matéria orgânica onde foram utilizados para serem semeados com a cultivar “BRS 284” de soja [*Glycine max* (L.) Merrill]. Os vasos permaneceram em casa de vegetação e, irrigados a cada 2 dias, obtendo-se material vegetal livre de resíduos de produtos fitossanitários. Após as plantas de soja atingirem o estágio fenológico V4 (onde terceira folha trifoliolada completamente desenvolvida, com seus folíolos expandidos, 4 nós e a quarta folha trifoliolada, com bordos não mais se tocando), as plantas foram utilizadas nos experimentos.

2.3 Sistema ASPECLE

O teste foi realizado utilizando o “Sistema ASPECLE - Avaliação da Seletividade de Pesticidas em Condições de Laboratório Estendido” no LECOBIOL. O sistema compõe-se de grupos de gaiolas de exposição, conectadas por mangueiras a um tubo central de ventilação, no qual é conectada uma mangueira proveniente de uma bomba de vácuo, responsável pela sucção dos gases tóxicos contidos nas gaiolas de exposição (ANEXO 10).

As extremidades das gaiolas de exposição foram lacradas com tecido “voil” presas por uma tampa plástica, sendo um lado da extremidade conectado ao tubo central e a outra extremidade usada para a introdução do parasitoide (ANEXO 11) (Adaptado MIRANDA, 2010; SANOMIA et al., 2020).

Os inseticidas foram classificados pela escala de notas toxicológicas definida por Hassan (1997, citada por Degrande et al., 2002), sendo nota toxicológica 1= Inócuo < 25% de redução na população de inimigos naturais; nota 2= Levemente nocivo sendo 25-50% de redução na população de inimigos naturais; nota toxicológica 3= Moderadamente nocivo sendo 51 - 75% de redução na população de inimigos naturais e; nota 4= Nocivo > 75% de redução na população de inimigos naturais (ANEXO 12).

2.4 Inseticidas utilizados no experimento

Para a realização dos testes seguiu-se as orientações metodológicas recomendadas pela IOBC/WPRS (International Organisation for Biological and Integrated Control of Integrated Control of Noxious Animals and Plants) (HASSAN, 1992). Os inseticidas utilizados foram: Acefato Nortox[®] (acefato 449,99 g i. a. ha⁻¹) (testemunha positiva), Voraz[®] (metomil 293,04 g i. a. ha⁻¹ + novalurom 23,31 g i. a. ha⁻¹), Assist[®] (0,2 % e 0,5 %) (Óleo mineral 302,4 g i. a. ha⁻¹ e 756 g i. a. ha⁻¹), Dipel WP[®] (*Bacillus thuringiensis* 16 g i. a. ha⁻¹), Belt[®] (flubendiamida 67,2 g i. a. ha⁻¹), Rimon[®] (novalurom 15 g i. a. ha⁻¹), Nomolt[®] 150 (teflubenzurom 30 g i. a. ha⁻¹ e 52,5 g i. a. ha⁻¹), sendo estes recomendados para o controle de *Chrysodeixis includens* na cultura da soja (AGROFIT, 2021). Água foi considerada testemunha negativa.

A escolha dos inseticidas foi baseada na frequência de uso para o controle de *C. includens* e pela diferença entre grupos químicos, biológicos e, misturas de inseticidas prontas, sempre na maior dose recomendada (Quadro 1).

Quadro 1. Principais inseticidas sintéticos, biológicos e misturas de inseticidas prontas para uso recomendados para o controle de *Chrysodeixis includens* na cultura da soja segundo AGROFIT (2021)

Nome Comercial	Ingrediente Ativo	Dosagem máxima do produto*	Concentração do Ingrediente Ativo (i. a)
Acefato Nortox [®]	Acefato	666 g ha ⁻¹	449,99 g ha ⁻¹
Voraz [®]	Metomil + Novalurom	666 mL ha ⁻¹	293,04 g ha ⁻¹ + 23,31 g ha ⁻¹
Assist [®] (0,5 %)	Óleo mineral	1000 mL ha ⁻¹	756 g ha ⁻¹
Dipel WP [®]	<i>Bacillus thuringiensis</i>	500 g ha ⁻¹	16 g ha ⁻¹
Dipel WP [®] + Assist [®] (0,2%)	<i>Bacillus thuringiensis</i> + Óleo mineral	500 g ha ⁻¹ + 400 mL ha ⁻¹	16 g ha ⁻¹ + 302,4 g ha ⁻¹
Belt [®]	Flubendiamida	140 mL ha ⁻¹	67,2 g ha ⁻¹
Rimon [®]	Novalurom	150 mL ha ⁻¹	15 g ha ⁻¹
Nomolt [®] 150	Teflubenzurom	200 mL ha ⁻¹	30 g ha ⁻¹
Nomolt [®] 150 + Assist [®] (0,5%)	Teflubenzurom + Óleo mineral	200 mL ha ⁻¹ + 1000 mL ha ⁻¹	30 g ha ⁻¹ + 756 g ha ⁻¹
Nomolt [®] 150 Superdose	Teflubenzurom	350 mL ha ⁻¹	52,5 g ha ⁻¹
Nomolt [®] 150 Superdose+Assist [®] (0,5%)	Teflubenzurom + Óleo mineral	350 mL ha ⁻¹ + 1000 mL ha ⁻¹	52,5 g ha ⁻¹ + 756 g ha ⁻¹

*Dosagem máxima do produto em volume de calda 200 L ha⁻¹.

2.5 Criação e manutenção de *Chrysodeixis includens*

Inicialmente a criação de *C. includens* procedeu-se por meio da aquisição de ovos pela empresa Pragas.com. Após a eclosão das lagartas, estas foram mantidas em copos plásticos de 500 ml com o fundo revestido com dieta artificial adaptada de Greene et al. (1976) e lacrado com tampa perfurada até atingirem o 3º instar larval. Logo foram transferidas para novos copos plásticos com dieta artificial, onde estes indivíduos permaneceram nos copos até se transformarem em pupas (ANEXO 1 e 2).

As pupas foram agrupadas em 75 fêmeas e 75 machos, em potes plásticos de 300 mL com fundo forrado por papel toalha e fechado com tecido “voil”, permanecendo por 6 dias no recipiente. A sexagem das pupas foi realizada sob estereomicroscópio (Motic SMZ-168).

No sétimo dia, estas pupas foram alocadas em gaiolas de tubos de PVC (25 cm de diâmetro por 30 cm de altura). O interior das gaiolas foi revestido com papel sulfite de cor rósea, e a parte superior vedada com tecido “voil” presa por gomas elásticas, sendo então sobrepostas em bandejas de plástico de cor verde claro (ANEXO 3) (Adaptado BARBOSA et al., 2018).

Copos plásticos de 50 mL com um chumaço de algodão embebido em solução aquosa de mel a 10 %, foram introduzidos no interior das gaiolas de PVC, sendo a solução utilizada como alimento para os adultos.

As gaiolas foram colocadas sobre estantes de aço sob iluminação artificial de duas lampas fluorescentes dispostas paralelamente (MAXXI® F 18W T8 Rosa do tipo Gro-lux e SYLVANIA® F 20W T10 5000K Luz do Dia Plus), sendo estas ligadas a um temporizador digital por um período de 14 horas de luz, para estimulação da cópula e da oviposição (ANEXO 4) (Adaptado MORANDO, 2014).

A oviposição das mariposas, iniciou-se a partir do quarto dia sob iluminação artificial, sendo pico atingido no sétimo dia, sendo então coletados os papéis sulfite contendo as posturas (ANEXO 5).

Os papéis foram inseridos em potes de plásticos de 7000 mL com a parte superior vedada por tecido “voil”. Após a eclosão das lagartas, estas permaneceram nos potes sendo alimentados por cubos de dieta artificial até atingirem o 3º instar. Em seguida, foram agrupadas em 100 indivíduos e transferidas para novos potes plásticos de 7000 mL, sendo mantida a alimentação a base de dieta artificial até se transformarem em pupas, reiniciando o ciclo (ANEXO 6) (Adaptado BARBOSA et al., 2018).

2.6 Criação e manutenção de *Tetrastichus howardi*

A produção do parasitoide *T. howardi* iniciou-se a partir de uma criação já estabelecida no LECOBIO. A criação iniciou-se com fêmeas adultas do parasitoide com 24 horas de idade, após a copula com os parasitoides machos.

Os parasitoides foram introduzidos em tubos (2,5 cm de diâmetro x 8,5 cm de comprimento) em grupos de cinco indivíduos fêmeas, simultaneamente com uma pupa de *Chrysodeixis includens* com idade de 24 a 48 horas, sendo a abertura do tubo vedado com algodão. Uma gotícula de mel puro introduzida na parede interna dos tubos serviu como alimento para as fêmeas do parasitoides (Adaptado BARBOSA et al., 2019).

A determinação do sexo foi realizada de acordo com o dimorfismo das antenas de *T. howardi* no qual, antenas das fêmeas possuem três segmentos funiculares de coloração escura e escapo sem placa sensorial na margem ventral. A antena dos machos denota quatro segmentos, tendo apenas a clava de coloração escura e o escapo exibe uma placa sensorial na margem ventral (ANEXO 7) (LA SALLE; POLASZEK, 2007).

O parasitismo foi permitido por 24 horas, após esse período, estas fêmeas parasitoides foram retiradas, permanecendo somente as pupas, até a emergência (cerca de 17 dias) dos novos parasitoides adultos, retomando o ciclo de criação do parasitoide (ANEXO 8).

2.7 Teste de parasitismo e desenvolvimento de *Tetrastichus howardi* em pupas de *Chrysodeixis includens* expostos aos resíduos de inseticidas

Para a realização do teste, plantas de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] no estágio fenológico V4 mantidas em vasos plásticos foram expostas a pulverização dos inseticidas (Quadro 1) utilizando um pulverizador manual de pressão (Brudden Pratical 2000[®]). Após a aplicação dos produtos, os vasos foram deixados secando ao ar livre, por cerca de 2 horas.

Logo após, as folhas foram destacadas, identificadas com seus respectivos tratamentos e alocadas no interior das gaiolas de exposição do sistema ASPECLE, de forma a aderir a parede das gaiolas de exposição (ANEXO 11) (Adaptado SANOMIA et al., 2020; MIRANDA, 2010).

Pupas com 24 horas de idade foram inseridas no centro das gaiolas de exposição, sobre a folhas com os resíduos dos inseticidas, sendo então introduzidas 5

fêmeas do parasitoide com 24 horas de idade (período para ocorrência da cópula) foram introduzidas no interior de cada gaiola de exposição, na densidade de 5:1 (para cada 5 parasitoides foi ofertada uma pupa), juntamente com um chumaço de algodão embebido em água, para manter a umidade no interior das gaiolas e para fornecimento de água aos parasitoides (ANEXO 13).

Após 24 horas do início do teste, os parasitoides e as pupas foram retiradas do sistema, sendo que os parasitoides foram descartados e as pupas alocadas em tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro por 8,5 cm de comprimento) com a parte superior vedada por algodão, com a finalidade de ocorrer a emergência dos adultos do parasitoide.

A porcentagem de parasitismo [(número de pupas com emergência de parasitoides + pupas sem emergência de adultos do parasitoide) / (número total de pupas) x 100], a porcentagem de emergência [(número de pupas com emergência de adultos dos parasitoides) / (número de pupas parasitadas) x 100]; a duração do ciclo (ovo-adulto) em dias; o número de parasitoides emergidos por pupa (progênie); a razão sexual dos parasitoides (RS= número de fêmeas / número de adultos) e a longevidade de machos e fêmeas (Adaptado Barbosa et al., 2015; TIAGO et al., 2019) foram avaliados.

A determinação da mortalidade natural de *C. includens* foi realizada por meio de 50 pupas alocadas individualmente em potes plásticos de 100 mL, sendo contabilizado o número de adultos emergidos. Assim a mortalidade natural do hospedeiro foi definida pela fórmula de Abbott $Mc (\%) = (\%Mo - \%Mt) / (100 - \%Mt) \times 100$, em que Mc = mortalidade corrigida; Mo= mortalidade observada e Mt = mortalidade na testemunha (ABBOTT, 1925).

2.8 Delineamento experimental e análises estatísticas

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com 12 tratamentos (Água (testemunha negativa) Acefato (testemunha positiva), Metomil + Novalurom, Óleo mineral (0,5 %), *Bacillus thuringiensis*, *B. thuringiensis* + Óleo mineral (0,2 %), Flubendiamida, Novalurom, Teflubenzurom, Teflubenzurom + Óleo mineral (0,5 %), Teflubenzurom Superdose, Teflubenzurom Superdose + Óleo mineral (0,5 %), sendo cinco fêmeas de *T. howardi* por uma pupa, com 10 repetições.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias quando significativas foram submetidas ao Teste de Tukey a 5% de probabilidade, o software empregado na análise estatística, foi o SASM-Agri.

3 RESULTADOS

Este trabalho registra pela primeira vez as características biológicas de *T. howardi* em pupas de *C. includens* em condições de laboratório. De acordo com os resultados, os inseticidas que mais influenciaram negativamente na porcentagem de parasitismo de *T. howardi* em pupas de *C. includens* foi metomil + novalurom com média de $0,00 \pm 0,00$, seguido pela testemunha positiva acefato que obteve a média de $20,00 \pm 13,33$ que por sua vez não diferiu do tratamento óleo mineral com média de $60,00 \pm 16,32$ (Figura 1).

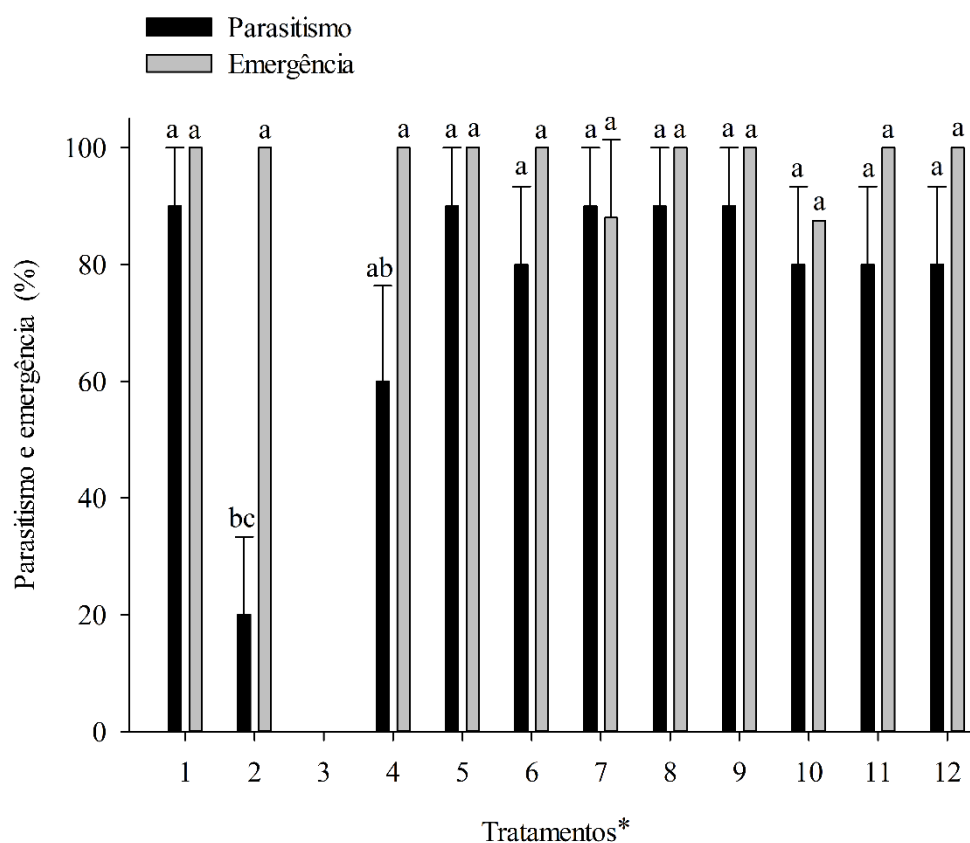


Figura 1. Porcentagem de parasitismo e emergência (\pm EP) de *Tetrastichus howardi* em pupas de *Chrysodeixis includens*, expostos a resíduos de inseticidas sintéticos, biológicos e misturas de inseticidas prontas para uso, usando o sistema ASPECLE, no período de 24 horas. 25 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 20\%$ e fotofase de 14 horas. Dourados -MS. (*tratamentos 1- Água, 2- Acefato, 3- Metomil + Novalurom, 4- Óleo mineral, 5- *Bacillus thuringiensis*, 6- *Bacillus thuringiensis* + Óleo mineral, 7- Flubendiamida, 8- Novalurom, 9- Teflubenzurom, 10- Teflubenzurom + Óleo mineral, 11- Teflubenzurom Superdose, 12- Teflubenzurom Superdose + Óleo mineral).

O tratamento óleo mineral, assim como os demais (*Bacillus thuringiensis*, *B. thuringiensis* + óleo mineral, flubendiamida, novalurom, teflubenzurom, teflubenzurom + óleo mineral, teflubenzurom superdose, teflubenzurom superdose + óleo mineral), não diferenciaram entre si, sendo análogos à testemunha negativa composta pelo tratamento água (Figura 1).

A porcentagem de emergência de *T. howardi* em pupas de *C. includens*, manteve-se a mesma para os tratamentos óleo mineral, *B. thuringiensis*, *B. thuringiensis* + óleo mineral, novalurom, teflubenzurom, teflubenzurom superdose e teflubenzurom superdose + óleo mineral ($100,00 \pm 0,00$), assim como para flubendiamida e teflubenzurom + óleo mineral ($88,00 \pm 13,33$ e $87,50 \pm 0,00$), não diferenciando da testemunha negativa água e positiva acefato, com média de $100,00 \pm 0,00$. No entanto, o inseticida metomil + novalurom, interferiu negativamente na emergência dos parasitoides ($0,00 \pm 0,00$), sendo estes inseticidas, nocivos ao parasitoide (Figura 1).

A redução da capacidade de parasitismo de *T. howardi* em pupas de *C. includens*, foi maior para o inseticida acefato, em torno de 78%, levando a classificação da toxicidade desse inseticida como nocivo a *T. howardi*, já o uso de óleo mineral levou à redução de 34% da capacidade de parasitismo de *T. howardi* em pupas de *C. includens*, sendo então classificado como levemente nocivo, os demais inseticidas (*Bacillus thuringiensis*, *Bacillus thuringiensis* + óleo mineral, flubendiamida, novalurom, teflubenzurom, teflubenzurom + óleo mineral, teflubenzurom superdose e teflubenzurom superdose + óleo mineral) foram classificados de acordo com a redução da capacidade de parasitismo como inócuos (Quadro 2).

Quadro 2. Parasitismo (%) (\pm EP) de fêmeas de *Tetrastichus howardi* sobre pupas de *Chrysodeixis includens* exposta a resíduos de inseticidas sintéticos, biológicos e misturas de inseticidas prontas para uso, usando o sistema ASPECLE, no período de 24 horas. 25 ± 2 °C, umidade relativa de 70 ± 20 % e fotoperíodo de 14 horas. Dourados-MS, 2021

Tratamentos	Grupo químico	Parasitismo (%)	R (%)	Classe de toxicidade ¹
Água	-	90,00 \pm 10,00 a	-	1
Acefato	Organofosforado	20,00 \pm 13,33 bc	78,00	4
Metomil + Novalurom	Metilcarbamato de oxima + Benzoiluréia	-	-	4
Óleo mineral	Hidrocarbonetos alifáticos	60,00 \pm 16,32 ab	34,00	2
<i>Bacillus thuringiensis</i>	Bacillus	90,00 \pm 10,00 a	-	1
<i>Bacillus thuringiensis</i> + Óleo mineral	Bacillus / hidrocarbonetos alifáticos	80,00 \pm 13,33 a	12,00	1
Flubendiamida	Diamida do ácido ftálico	90,00 \pm 10,00 a	-	1
Novalurom	Benzoiluréia	90,00 \pm 10,00 a	-	1
Teflubenzurom	Benzoiluréia	90,00 \pm 10,00 a	-	1
Teflubenzurom + Óleo mineral	Benzoiluréia / Hidrocarbonetos alifáticos	80,00 \pm 13,33 a	12,00	1
Teflubenzurom Super Dose	Benzoiluréia	80,00 \pm 13,33 a	12,00	1
Teflubenzurom Super Dose + Óleo mineral	Benzoiluréia / Hidrocarbonetos alifáticos	80,00 \pm 13,33 a	12,00	1

Médias seguidas pela mesma letra (minúscula) na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). ¹Classes de toxicidade: 1, inócuo (< 25%); 2, levemente nocivo (25 – 50%); 3, moderadamente nocivo (51 – 75%); e 4, nocivo (> 75%). EP= erro padrão. R= porcentagem de redução da capacidade de parasitismo (-) = Sem redução de parasitismo.

Após 24 horas de exposição de fêmeas de *T. howardi* sobre pupas de *C. includens*, os inseticidas metomil + novalurom, interferiu negativamente na duração do ciclo (dias), progênie, razão sexual, longevidade de fêmeas e machos (dias), com média de (0,00 \pm 0,00), diferindo-se da testemunha negativa água e da testemunha positiva Acefato (Quadro 3).

Quadro 3. Duração (\pm EP) do ciclo de vida, progênie, razão sexual e longevidade de fêmeas e machos, de *Tetrastichus howardi* em pupas de *Chrysodeixis includens*, exposto a resíduos de inseticidas sintéticos, biológicos e misturas de inseticidas prontas para uso, usando o sistema ASPECLE, no período de 24 horas. 25 ± 2 °C, umidade relativa de 70 ± 20 % e fotoperíodo de 14 horas. Dourados-MS, 2021

Tratamentos	Duração do Ciclo (Dias)	Progênie por pupa	Razão Sexual	Longevidade Fêmeas (Dias)	Longevidade macho (Dias)
Água	18,00 \pm 0,78a	187,11 \pm 32,3a	0,96 \pm 0,01a	16,70 \pm 1,81a	17,50 \pm 2,60ab
Acefato	17,00 \pm 0,00a	91,00 \pm 7,00ab	0,96 \pm 0,01a	13,75 \pm 0,84a	12,57 \pm 2,34b
Metomil + Novalurom	-	-	-	-	-
Óleo mineral	17,00 \pm 0,00a	185,16 \pm 31,98a	0,94 \pm 0,01a	14,4 \pm 1,07a	19,50 \pm 2,23ab
<i>Bacillus thuringiensis</i>	17,77 \pm 0,44a	151,33 \pm 33,67a	0,93 \pm 0,01a	18,65 \pm 1,45a	22,30 \pm 2,15a
<i>Bacillus thuringiensis</i> + Óleo mineral	17,37 \pm 0,41a	145,75 \pm 2,82a	0,93 \pm 0,01a	15,15 \pm 1,24a	21,11 \pm 1,72ab
Flubendiamida	17,12 \pm 0,22a	162,62 \pm 24,42a	0,94 \pm 0,01a	14,80 \pm 1,78a	15,20 \pm 2,05ab
Novalurom	17,88 \pm 0,48a	109,66 \pm 26,01a	0,91 \pm 0,03a	15,15 \pm 1,59a	15,30 \pm 2,15ab
Teflubenzurom	17,00 \pm 0,23a	141,77 \pm 16,67a	0,94 \pm 0,01a	13,85 \pm 1,11a	21,00 \pm 2,07ab
Teflubenzurom + Óleo mineral	17,71 \pm 0,47a	97,14 \pm 25,03ab	0,95 \pm 0,01a	15,90 \pm 0,39a	16,50 \pm 1,89ab
Teflubenzurom Superdose	17,85 \pm 0,44a	106,50 \pm 21,14ab	0,95 \pm 0,01a	16,65 \pm 1,04a	16,40 \pm 2,03ab
Teflubenzurom Superdose + Óleo mineral	17,12 \pm 0,29a	151,87 \pm 25,50a	0,95 \pm 0,01a	14,60 \pm 0,83a	16,20 \pm 1,38ab

Médias seguidas pela mesma letra (minúscula) na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Ao analisar a duração do ciclo (dias), razão sexual e longevidade de fêmeas, não houve diferença entre os inseticidas, incluindo a testemunha negativa (água) e a testemunha positiva (acefato) (Quadro 3).

Para a progênie, pode ser observado que apesar de não se notar diferença significativa entre os tratamentos, observa-se a redução no número de indivíduos quando em contato com os inseticidas novalurom, teflubenzurom + óleo mineral, teflubenzurom superdose e a testemunha positiva acefato (Quadro 3).

Já para a longevidade dos machos, pode ser observado que o *B. thuringiensis*, obteve a maior longevidade entre os demais inseticidas analisados, com média de $22,30 \pm 2,15$. A testemunha positiva acefato, apresentou a menor longevidade entre os inseticidas, com média de $12,57 \pm 2,34$, diferindo do *B. thuringiensis*, no entanto, não diferenciou significativamente dos demais tratamentos (água, óleo mineral, *B. thuringiensis* + óleo mineral, flubendiamida, novalurom, teflubenzurom, teflubenzurom + óleo mineral, teflubenzurom superdose, teflubenzurom superdose + óleo mineral) (Quadro 3).

Dentre os inseticidas analisados, o metomil + novalurom e a testemunha positiva acefato, apresentaram efeito de choque, podendo ser atribuídos a eles como nocivos a fêmeas adultas de *T. howardi*. Já os demais inseticidas, (óleo mineral, *B. thuringiensis*, *B. thuringiensis* + óleo mineral (0,2%), flubendiamida, novalurom, teflubenzurom, teflubenzurom + óleo mineral (0,5%), teflubenzurom superdose, teflubenzurom superdose + óleo mineral (0,5%)), não demostram ser tóxicos as fêmes destes parasitoide, incumbindo-os como inócuos ao parasitoide.

4 DISCUSSÃO

Além da importância de saber a seletividade sobre adultos de parasitoides, é de grande notoriedade as características biológicas como duração do ciclo de vida, razão sexual e número da progênie, dos insetos, que podem ser influenciadas pelo uso de inseticidas (SANOMIA et al., 2020).

A maior redução de capacidade de parasitismo de *C. includens* por *T. howardi* foi pela aplicação de acefato. O menor parasitismo e o efeito sobre a progênie estão relacionados à maior toxicidade por acefato, essa toxicidade dos organofosforados está relacionado ao caráter lipofílico de alguns inseticidas, que penetra facilmente a cutícula do inseto, pois a cutícula é de composição lipídica e devido às baixas massas moleculares (STOCK; HOLLOWAY, 1993; FERNANDES et al., 2010). Os organofosforados atuam sobre o sistema nervoso levando à hiperexcitação do sistema nervoso, chamada de síndrome colinérgica levando à morte do inseto (SANTOS et al., 2007).

Os insetos-praga, assim como os inimigos naturais, são atingidos pela fosforilação da enzima acetilcolinesterase (AChE) nas terminações nervosas, ocasionando o envenenamento dos insetos pela privação da AChE (CARMO et al., 2010). Os resultados disponíveis nesse trabalho, demonstram que o uso do inseticida acefato, não atende aos métodos empregados no programa de controle biológico, sendo este produto não seletivo aos inimigos naturais.

Características como duração do ciclo de ovo-adulto em dias, razão sexual e longevidade das fêmeas não foram influenciadas pela aplicação dos inseticidas, já a longevidade dos machos pode ter sido influenciada pelos diferentes inseticidas. Porém, quando o ciclo de vida de fêmeas e machos é superior a 10 dias, é considerado período suficiente para os indivíduos copularem (PRATISSOLI et al., 2005; TIAGO et al., 2019).

A longevidade dos parasitoides é um indicador de sua capacidade e de sua qualidade em gerar novos descendentes, sendo que uma longevidade maior das fêmeas permite analisar as características do hospedeiro em relação ao parasitoide, possibilitando a geração de uma prole vigorosa (COSTA et al., 2014; TIAGO et al., 2019).

Ao avaliar o número de parasitoides emergidos por pupas (progênie), observa-se que os inseticidas teflubenzurom + óleo mineral e teflubenzurom superdose ocasionou a menor progênie em comparação aos demais inseticidas. Alguns inseticidas do grupo dos IGRs (Inseticidas Reguladores de Crescimento de Insetos) apresentam-se

inócuos a adultos de parasitoides, por outro lado, apresentam alguma toxicidade a imaturos de parasitoides, pois atuam sobre a síntese de quitina e interferem na formação do exoesqueleto após a troca de ecdise (FELTRIN-CAMPOS et al., 2019; SANOMIA et al., 2020).

O uso de alguns inseticidas em maior dosagem, assim como o teflubenzurom superdose, pode levar a efeitos maléficos em relação às características biológicas dos parasitoides (FELTRIN-CAMPOS et al., 2019). No entanto, no presente trabalho, os inseticidas novaluron e teflubenzurom apresentaram baixa toxicidade sobre a características biológicas dos parasitoides, sendo estes produtos seletivos a *T. howardi*. Resultados semelhantes foram observados ao analisar a seletividade de inseticidas sobre o parasitoide *Ooencyrtus submetallicus* (Howard, 1897) (Hymenoptera: Encyrtidae), demonstrando que estes inseticidas são inofensivos (SANOMIA et al., 2020).

O parasitismo de pupas de *C. includens* por *T. howardi* foi reduzido pelo uso do óleo mineral. O óleo induz a adesão de asas, antenas e pernas ao corpo do parasitoide, reduzindo o parasitismo e podendo levar à mortalidade de pequenos insetos parasitoides (BRUNNER et al., 2001).

Misturas de inseticidas com óleo mineral podem levar a um efeito sinérgico; o óleo mineral pode aumentar a velocidade de penetração do inseticida pela cutícula do inseto e também, maior penetração do inseticida na planta (GUEDES et al., 1995).

Este estudo permite o conhecimento sobre os inseticidas estudados e seus efeitos sobre as características biológicas do parasitoide *T. howardi*, permitindo assim, uma melhor implementação dos inseticidas considerados inócuos dentro do manejo integrado de pragas. Estudos em condições de campo devem ser realizados para o inseticida acefato uma vez que ele foi considerado nocivo em condição de semicampo.

5 CONCLUSÃO

Os inseticidas acefato e metomil + novalurom, interferiam negativamente nas características biológicas das fêmeas de *T. howardi* quando expostas ao parasitismo em pupas de *C. includens*, sendo atribuído a estes inseticidas, como não seletivos ao parasitoide em condições simuladas de semicampo.

Os inseticidas óleo mineral, *Bacillus thuringiensis*, *B. thuringiensis* + óleo mineral (0,2 %), flubendiamida, novalurom, teflubenzurom, teflubenzurom + óleo mineral (0,5 %), teflubenzurom superdose, teflubenzurom superdose + óleo mineral (0,5 %) não afetaram as características biológicas das fêmeas de *T. howardi* quando expostas ao parasitismo em pupas de *C. includens*, sendo estes considerados seletivos ao parasitoide em condições simuladas de semicampo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGROFIT. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. 2021. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso: 11 de Agosto de 2021.
- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal Economy Entomology**, v. 18, n. 2, p. 265 - 267, 1925.
- BARBOSA, M. S.; DIAS, B. B.; SANTANA, M. S.; VIEIRA, G. H. C.; Applying plant oils to control fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in corn. **Australian Journal of Crop Science**, Australia-AUS, v. 12, n. 4, p. 557 - 562, 2018.
- BARBOSA, R. H.; PEREIRA, F. F.; MOTOMIYA, A. V. A.; KASSAB, S. O.; ROSSONI, C.; TORRES, J. B.; MUSSURY, R. M.; PASTORI, P. L. *Tetrastichus howardi* density and dispersal toward augmentation biological control of sugarcane borer. **Neotropical Entomology**, v. 48, n. 2, p. 323 - 331, 2019.
- BRUNNER, J. F.; DUNLEY, J. E.; DOERR, M. D.; BEERS, E. H. Effect of Pesticides on *Colpoclypeus florus* (Hymenoptera: Eulophidae) and *Trichogramma platneri* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), Parasitoids of Leafrollers in Washington. **Journal of Economic Entomology**, v. 94, n. 5, p. 1075–1084, 2001.
- CAMPEÃO, P.; SANCHES, A. C.; MACIEL, W. R. E. Mercado Internacional de Commodities Uma Análise da Participação do Brasil no Mercado Mundial de Soja entre 2008 e 2019. **Revista Desenvolvimento em Questão**, v.18, n. 51, p. 76 - 92, 2020.
- CARMO, E. L.; BUENO, A. F.; BUENO, R. C. O. F. Pesticide selectivity for the insect egg parasitoid *Telenomus remus*. **BioControl**, v. 55, n. 4, p. 455 – 464, 2010.
- CARVALHO, L. C.; FERREIRA, F. M.; BUENO, N. M. Importância econômica e generalidades para o controle da lagarta falsa-medideira na cultura da soja. **Enciclopédia Biosfera**, v.8, n. 15, p. 1021 - 1034, 2012.
- CONAB, C. N. A. **Companhia Nacional de Abastecimento**. Brasília-DF: Companhia Nacional de Abastecimento, 2021. 115 p. (Boletim de Safras, 10).
- COSTA, D. P.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; ROSSONI, C.; FAVERO, K.; BARBOSA, R. H. Reprodução de *Tetrastichus howardi* em pupas de *Diatraea saccharalis* de diferentes idades. **Revista de Ciências Agrárias / Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 57, n. 1, p. 67-71, 2014.
- DEGRANDE, P. E.; REIS, P. R.; CARVALHO, G. A.; BELARMINDO, L. C. Metodologia para avaliar o impacto de pesticidas sobre inimigos naturais. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. **Controle Biológico no Brasil**. São Paulo: Manole, 2002. p.71-94.

- FAVORETO, A. L.; PAVANI, R. F.; RIBEIRO, M. F.; ZANUNCIO, A. J. V.; SOARES, M. A.; ZANUNCIO, J. C.; WILCKEN, C. F. *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae): first report of parasitism in *Oxydia vesulia* (Lepidoptera: Geometridae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 81, n. 2, p. 406 - 410, 2021.
- FELTRIN-CAMPOS, E.; RINGENBERG, R.; CARVALHO, G. A.; GLAESER, D. F. Selectivity of Insecticides Against Adult *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on Cassava. **Journal of Agricultural Science**; v. 11, n. 1, p. 546 – 552, 2019.
- FERNANDES, F. L.; BACCI, L.; FERNANDES, M. S. Impact and Selectivity of Insecticides to Predators and Parasitoids. **EntomoBrasilis**, v. 3, n. 1, p. 1-10, 2010.
- GREENE, G. L.; LEPPLA, N. C.; DICKERSON, W. A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial médium. **Journal Economy Entomology**, v. 69, n. 4, p. 487-488, 1976.
- GUEDES, R. N. C.; PICANÇO, M. C.; GUEDES, N. M. P.; MEDEIRA, N. R. Sinergismo do óleo mineral sobre a toxicidade de inseticidas para Scrobipalpuloides absoluta (Lepidoptera: Gelechiidae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, n. 3, p. 313-318, 1995.
- HASSAN, S. A. **Guidelines for testing the effects of pesticides on beneficial organisms: description of test methods**. Montfavet: The Organization, 186 p.1992.
- LA SALLE, J.; POLASZEK, A. Afrotropical species of the *Tetrastichus howardi* species group (Hymenoptera: Eulophidae). **African Entomology**, v. 15, n. 1, p. 45 - 56, 2007.
- MACHADO, A. V. A.; POTIN, D. M.; TORRES, J. B.; TORRES, C. S. A. S. Selective insecticides secure natural enemies action in cotton pest management. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 184, n. 1, p. 1 - 11, 2019.
- MAGALHÃES, B. R. D. S.; SOSA-GOMÉZ, D. R.; DIONÍSIO, J. F.; DIAS, F. C.; BALDISSERA, J. N. D. C.; RINCÃO, M. P.; ROSA, R. D. Cytogenetic markers applied to cytotaxonomy in two soybean pests: *Anticarsia gemmatalis* (Hubner, 1818) and *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858). **Plos One**, v. 15, n. 3, p. 01 - 09, 2020.
- MENG, E.; QIAO, T.; TANG, B.; HOU, Y.; YU, W.; CHEN, Z. Effects of ovarian fluid, venom and egg surface characteristics of *Tetrastichus brontispae* (Hymenoptera: Eulophidae) on the immune response of *Octodonta nipae* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Journal of Insect Physiology**, v. 109, n. 1, p. 125 – 137. 2018.
- MIRANDA, G. A. S. **Padronização de metodologia para avaliar a seletividade de pesticidas sobre parasitoides de ovos**. 2010. 58p. Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) – Universidade Federal da Grande Dourados- UFGD, 2010.
- MORANDO, R. **Resistência de genótipos de feijoeiro a *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: noctuidae)**. 2014. 81p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônomicas-UNESP, 2014.

- NOGUEIRA, A. P. O.; SEDYAMA, T.; SOUSA, L. B.; HAMAWAKI, O. T.; CRUZ, C. D.; PEREIRA, D. G.; MATSUO, E. Análise de trilha e correlações entre caracteres em soja cultivada em duas épocas de semeadura. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 6, p. 877 - 888, 2012.
- OLIVEIRA, H. N.; SIMONATO, J.; GLAESER, D. F.; PEREIRA, F. F. Parasitism of *Helicoverpa armigera* pupae (Lepidoptera: Noctuidae) by *Tetrastichus howardi* and *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina-PR, v. 37, n. 1, p. 111 - 115, 2016.
- PASINI, R. A.; GRÜTZMACHER, A. D.; SPAGNOL, D.; ARMAS, F. S.; NORMBERG, A. V.; CARVALHO, H. J. S. Ação residual de agrotóxicos pulverizados em plantas de milho sobre *Trichogramma pretiosum*. **Revista Ceres**, v. 64, n.3, p. 242 - 249, 2017.
- PERINI, C. R.; ARNEMANN, J. A.; CAVALLIN, L. D. A.; GUEDES, G. A.; MARQUES, R. P.; VALMORBIDA, I.; SILVA, K. D.; FELTRIN, N. M.; PUNTEL, L.; FROEHLICH, R.; GUEDES, J. V. C. Challenges in chemical management of soybean looper (*Chrysodeixis includens*) using several insecticides. **Australian Journal of Crop Science**, v. 13, n. 10, p. 1723 – 1730, 2019.
- PEREIRA, P. F.; KASSAB, S. O.; CALADO, V. R. F.; VARGAS, E. L.; OLIVEIRA, H. N.; ZANUNCIO, J. C. Parasitism and Emergence of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) Larvae, Pupae and Adults. **Florida Entomologist**, Washington-DC, v. 98, n. 1, p. 377 - 380, 2015.
- PRATISSOLI, D.; ZANUNCIO, J. C.; VIANNA, U. R.; ANDRADE, J. S.; PINON, T. B. M.; ANDRADE, G. S. Thermal requirements *Trichogramma pretiosum* and *T. acacioi* (Hym.: Trichogrammatidae), parasitoids of the avocado defoliator *Nipteria panacea* (Lep.: Geometridae), in eggs of two alternative hosts. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, p. 523–529, 2005.
- SABER, M.; ABEDI, Z. Effects of methoxyfenozide and pyridalyl on the larval ectoparasitoid *Habrobracon hebetor*. **Journal of Pest Science**, v. 86, n. 4, p. 685-693, 2013.
- SANOMIA, W. Y.; PEREIRA, F. F.; SILVA, I. F. Insecticide selectivity to *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) under extended laboratory conditions. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 50, n. 1, p. 1 – 8, 2020.
- SANTOS, V. M. R.; DONNICI, C. L.; DA COSTA, J. B. N.; CAIXEIRO, J. M. R. Compostos organofosforados pentavalentes: histórico, métodos sintéticos de preparação e aplicações como inseticidas e agentes antitumorais. **Química Nova**, v. 30, p. 159-170, 2007.
- SPECHT, A.; PAULA-MORAES, S. V.; SOSA-GÓMEZ, D. R. Host plants of *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera, Noctuidae, Plusiinae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 59, n. 4, p. 343 – 345, 2015.

STOCK, D.; HOLLOWAY, P. J. Possible mechanisms for surfactant-induced foliar uptake of agrochemicals. **Pesticide Science**, v. 38, p. 165-177, 1993.

TANG, B. Z.; MENG, E.; ZANG, H. J.; ZANG, X. M.; ASGARI, S.; LIN, Y. P.; LIN, Y. Y.; PENG, Z. Q.; QIAO, T. ZHANG, X. F.; HOU, Y. M. Combination of label-free quantitative proteomics and transcriptomics reveals intraspecific venom variation between the two strains of *Tetrastichus brontispae*, a parasitoid of two invasive beetles. **Journal of Proteomics**, v. 192, n. 1, p. 37 - 53, 2019.

TIAGO, E. F.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; BARBOSA, R. H.; CARDOSO, C. R. G.; SANOMIA, W. Y.; PEREIRA, H. C.; SILVA, R. M. M. F.; ZANUNCIO, J. C. Biological Quality of *Tetrastichus Howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) Reared with *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) Pupae after Cold Storage. **Florida Entomologist**, v. 102, n. 3, p. 571 - 576, 2019.

CONCLUSÕES GERAIS

O maior parasitismo e desenvolvimento de *T. howardi* foi obtido em pupas de *C. includens* com 24 a 96 horas, sendo esta faixa etária, favorável à criação deste parasitoide em condições de laboratório.

Uma fêmea de *T. howardi* é capaz de parasitar e se desenvolver em pupa de *C. includens*, informação importante para que novos estudos sejam realizados com este parasitoide, em condições de campo. De maneira geral, cinco a dez fêmeas de *T. howardi* é a densidade ideal para sua criação em pupas de *C. includens*.

Os inseticidas Acefato e metomil + novalurom são nocivos a fêmeas do parasitoide *Tetrastichus howardi*, atribuindo a estes inseticidas como não seletivos, em condição de semicampo, utilizando o sistema ASPECLE.

Os inseticidas óleo mineral, *Bacillus thuringiensis*, *B. thuringiensis* + óleo mineral (0,2 %), flubendiamida, novalurom, teflubenzurom, teflubenzurom + óleo mineral (0,5%), teflubenzurom superdose, teflubenzurom superdose + óleo mineral (0,5%), são inócuos e, portanto, seletivos a fêmeas do parasitoide *T. howardi*, em condição de semicampo, utilizando o sistema ASPECLE.

Os inseticidas acefato e metomil + novalurom, interferiam negativamente nas características biológicas das fêmeas de *T. howardi*, quando expostas ao parasitismo em pupas de *C. includens*, sendo atribuído a estes inseticidas como não seletivos ao parasitoide em condições de semicampo.

Os inseticidas óleo mineral, *Bacillus thuringiensis*, *B. thuringiensis* + óleo mineral (0,2 %), flubendiamida, novalurom, teflubenzurom, teflubenzurom + óleo mineral (0,5 %), teflubenzurom superdose, teflubenzurom superdose + óleo mineral (0,5 %) não afetaram as características biológicas das fêmeas adultas de *T. howardi*, quando expostas ao parasitismo em pupas de *C. includens*, sendo estes considerados seletivos ao parasitoide em condições de semicampo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados inéditos apresentados nesta tese fomentam o conhecimento sobre o desenvolvimento e a reprodução de *T. howardi* em pupas de diferentes idades de *C. includens*, confirmando sua plasticidade e a capacidade de se desenvolver principalmente em pupas de lepidópteros.

Esta pesquisa permitiu determinar a quantidade de parasitoides que se desenvolvem e emergem de pupa de *C. includens* em função da densidade de fêmeas. Foi possível provar com trabalhos desta tese que apenas uma fêmea do parasitoide tem a capacidade de parasitar e causar mortalidade de pupa de *C. includens*, o que é importante para o sucesso do controle biológico aplicado de *C. includens* com este parasitoide. Desta forma, os resultados obtidos são significativos para que novos estudos sejam realizados em condições de campo.

Os dados obtidos do experimento relacionando a seletividade de inseticidas sobre fêmeas de *T. howardi* utilizando o sistema ASPECLE, permitiu determinar a inocuidade desses defensivos agrícolas em condições de laboratório ampliado, nas quais os parasitoides foram expostos a folhas tratadas com inseticidas.

A utilização do sistema ASPECLE nos permitiu obter dados sobre as características biológicas de *T. howardi* em pupas de *C. includens* quando exposto a diferentes inseticidas simulando assim condições de semicampo.

Devido ao sistema ASPECLE, simular condições de semi-campo, os inseticidas que demonstraram ser tóxicos ao parasitoide neste sistema, tem-se a necessidade de realizar novos experimentos, apenas em condições de campo, economizando tempo e recursos financeiros.

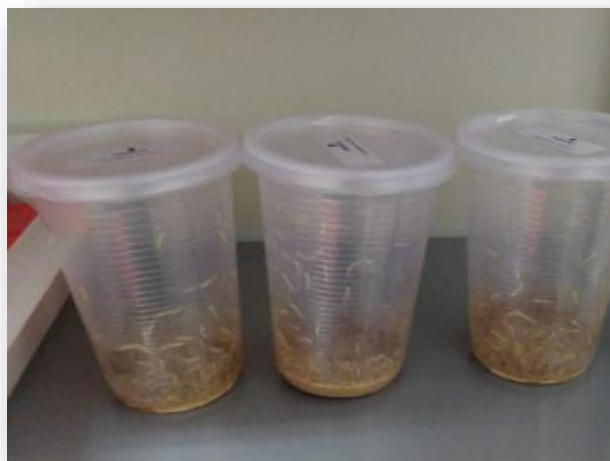
Os resultados adquiridos nesta tese são importantes para compor a técnica de multiplicação de *T. howard*, para ser utilizado em execução de estudos científicos, para a sua multiplicação massal e para execução de testes com produtos fitossanitários a este parasitoide. Além disso, novas pesquisas devem ser realizadas para avaliar a eficiência biológica de fêmeas de *T. howardi*, visando equilibrar populações de *C. includens*, na cultura da soja.

ANEXOS

ANEXO 1. Composição da dieta artificial para manutenção das lagartas de *Chrysodeixis includes* em laboratório (Adaptada de GRENNE et al., 1976).

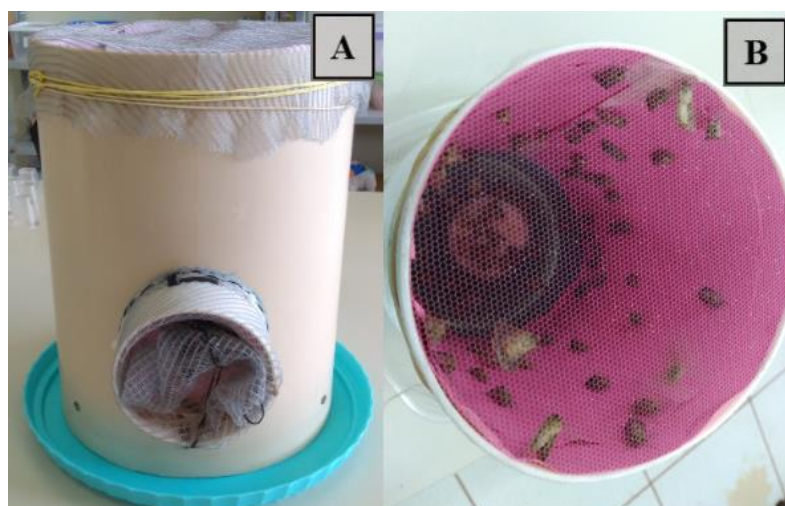
Ingredientes	Quantidade (g / mL)
Germe de trigo	45,00 g
Levedura	28,15 g
Proteína de soja	22,50 g
Caseína	22,50 g
Ácido Sórbico	1,35 g
Ácido Ascórbico	2,70 g
Metil parahidroxibenzoato (nipagin)	2,25 g
Tetraciclina	0,09 g
Agar	17,50 g
Feijão (carioca ou tipo branco)	56,25 g
Solução vitamínica*	7,0 mL
Formaldeído	2,7 mL
Água destilada	900 mL
*Composição da mistura vitamínica de Vanderzant	
Niacianamida	1,000 mg
Pantotenado 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	0,250 mg
Vitamina B ₁₂	0,250 mg

ANEXO 2. Lagartas de *Chrysodeixis includens* de 3º ínstar no interior de copos plásticos de 500 mL contendo dieta artificial. Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL), Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, 2021.



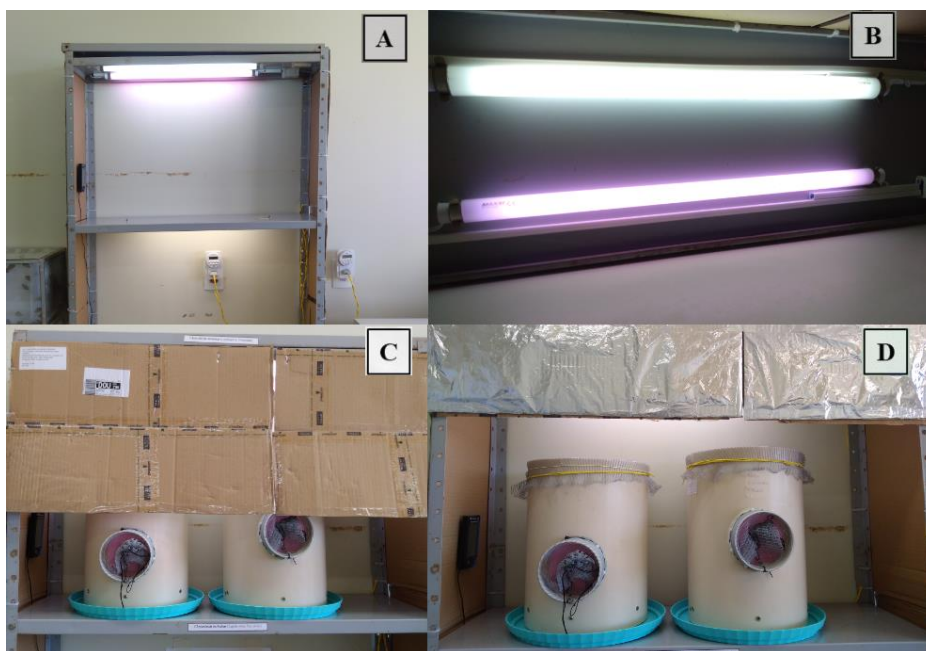
Fonte: Marcelo Sousa Barbosa

ANEXO 3. Gaiolas de criação confeccionadas de tubos de PVC. Vista frontal da gaiola, sobre bandeja plástica de cor esverdeada (A) e vista interna da gaiola com interior forrado com papel sulfite de cor rósea (B). Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL), Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, 2021.



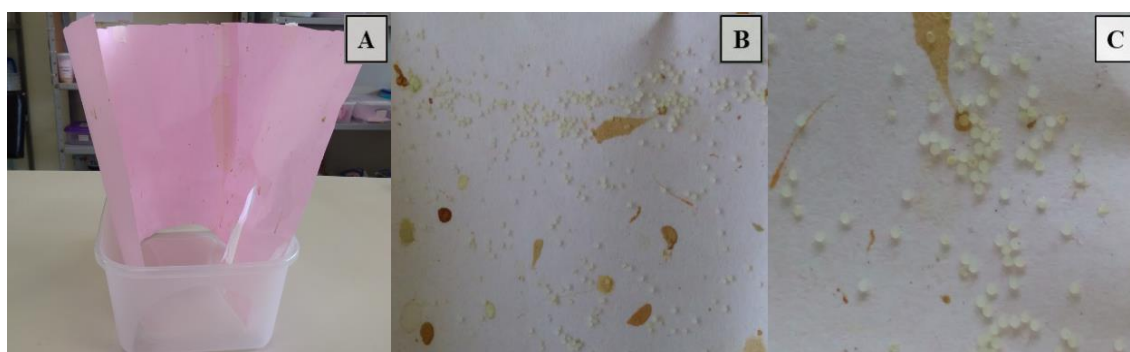
Fonte: Marcelo Sousa Barbosa

ANEXO 4. Sistema de iluminação artificial para reprodução e oviposição de *Chrysodeixis includens*. Sistema de iluminação montado em estante de aço (A); lâmpadas artificiais dispostas paralelamente sobre as gaiolas (B), bandeja disposta sobre estante de aço fechada parcialmente com papelão (C) e interior do papelão revestido com papel alumínio (D). No Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL), Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, 2021.



Fonte: Marcelo Sousa Barbosa

ANEXO 5. Ovos de *Chrysodeixis includens* ovipositados em papel sulfite e coletados a partir do sétimo dia. Papel sulfite retirado das gaiolas PVC (A), Ovos sobre o papel sulfite (B, C). Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL), Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, 2021.



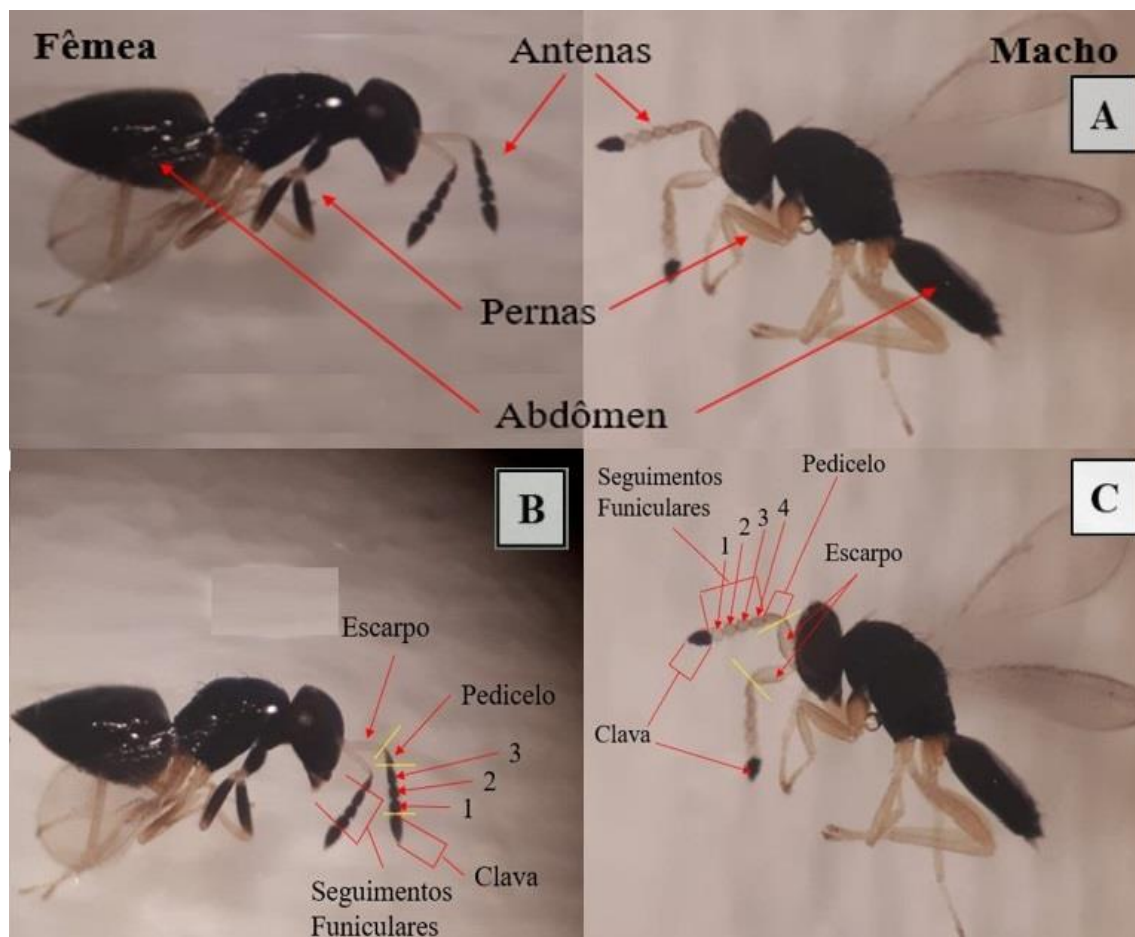
Fonte: Marcelo Sousa Barbosa

ANEXO 6. Ciclo de vida de *Chrysodeixis includens*, e fase de exploração do parasitoide *Tetrastichus howardi*. Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, 2021.



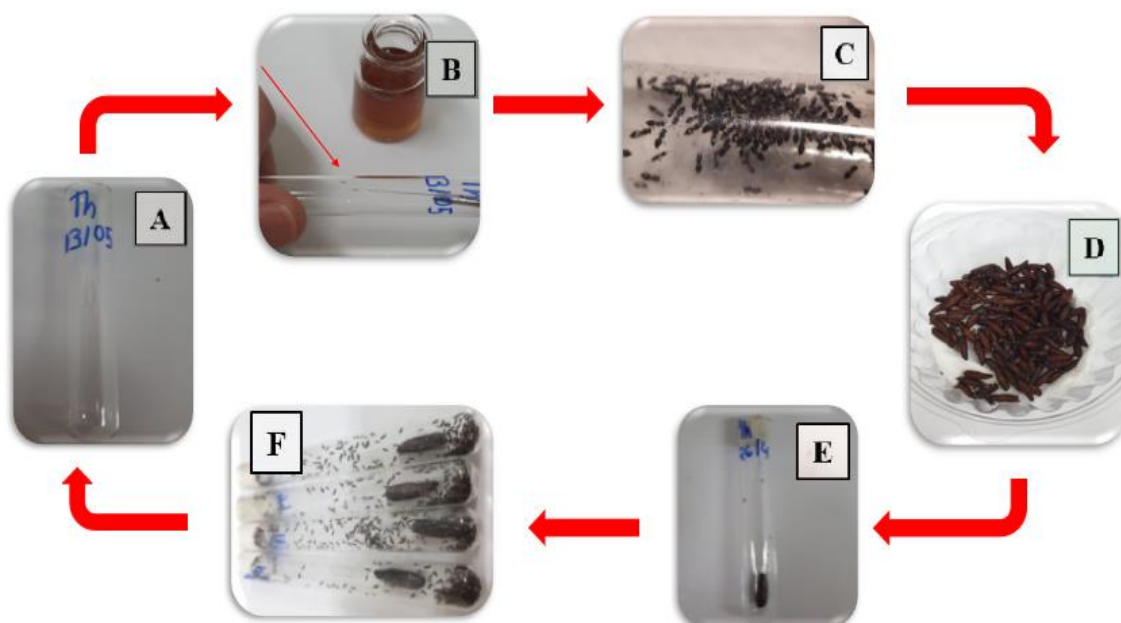
Fonte: Marcelo Sousa Barbosa

ANEXO 7. Dimorfismo sexual de *Tetrastichus howardi* (A); antenas da fêmea (B), antenas do macho (C). Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL), Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, 2021.



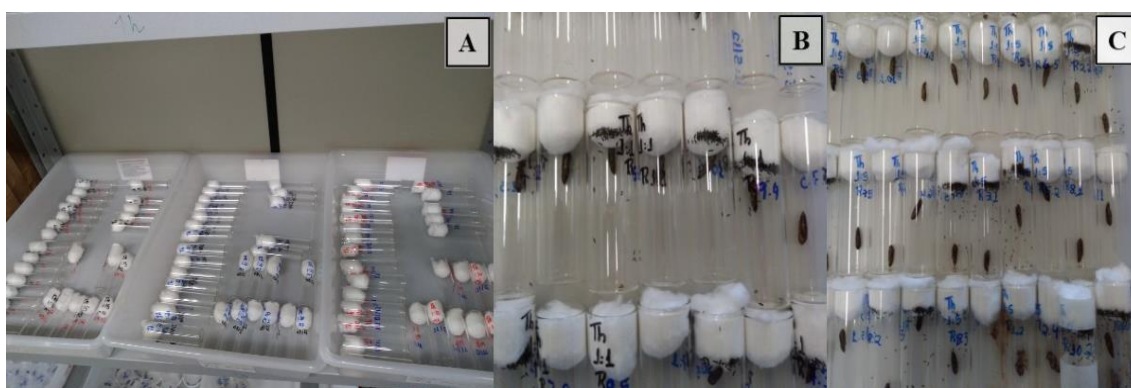
Fonte: Marcelo Sousa Barbosa

ANEXO 8. Ciclo de criação e manutenção de *Tetrastichus howardi*. Tubo de ensaio (A); mel puro (B); fêmeas parasitoides (C); Pupas de *Chrysodeixis includens* (D); Fêmea parasitoides e pupa de *C. includens* no interior do tubo de ensaio lacrado com algodão (E) e; emergência dos adultos parasitoides (F). Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL), Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil 2021.



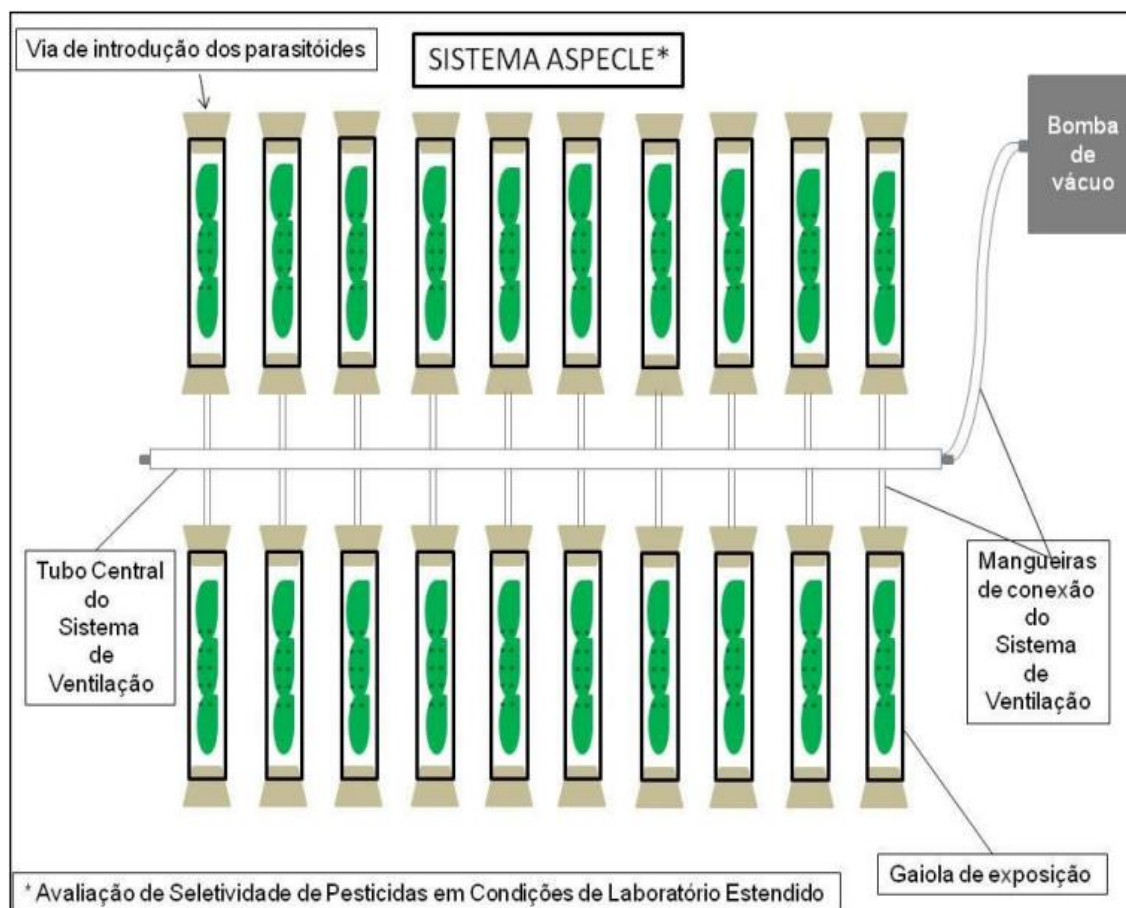
Fonte: Marcelo Sousa Barbosa

ANEXO 9. Teste de parasitismo e desenvolvimento de *Tetrastichus howardi* em pupas de *Chrysodeixis includens* em diferentes densidades de fêmeas do parasitoides. Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL), Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, 2021.

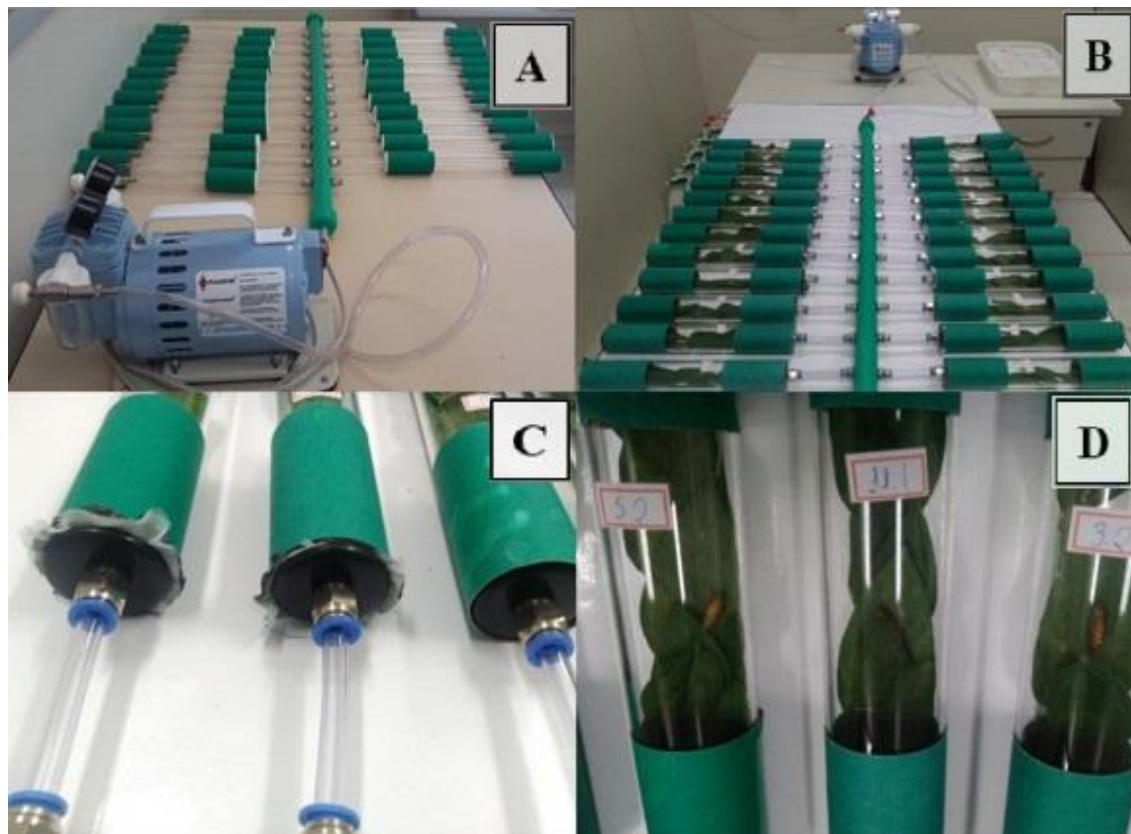


Fonte: Marcelo Sousa Barbosa

ANEXO 10. Desenho esquemático do sistema ASPECLE (Avaliação da Seletividade de Pesticidas em Condições de Laboratório Estendido) desenvolvido para expor os parasitoides aos resíduos de pesticidas e avaliar a seletividade desses produtos sobre os parasitoides (MIRANDA, 2010). Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL), Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.



ANEXO 11. Sistema de Avaliação da Seletividade de Pesticidas em Condições de Laboratório Estendido (ASPECLE). Dimensionamento do sistema montado (A) e (B), sistema de conexão (C), detalhe das gaiolas de exposição contendo folhas e pupas (D). Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL), Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, 2021.



Fonte: Marcelo Sousa Barbosa

ANEXO 12. Classificação da seletividade de pesticidas a inimigos naturais em condições de semi-campo. Adaptado de HASSAN (1997), citado por Degrande et al. (2002).

Classes de toxicidade	Redução na população de inimigos naturais	Nota
Inócuo	< 25 %	1
Levemente nocivo	25 – 50 %	2
Moderadamente nocivo	51 – 75 %	3
Nocivo	> 75 %	4

ANEXO 13. Sistema de Avaliação da Seletividade de Pesticidas em Condições de Laboratório Estendido (ASPECLE). Dimensionamento do sistema montado (A), introdução do material vegetal e da pupa hospedeira no interior da gaiola de exposição (B), introdução do parasitoide no interior da gaiola de exposição (C). Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL), da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, 2021.



Fonte: Marcelo Sousa Barbosa