

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**Parasitismo e desenvolvimento de *Ooencyrtus submetallicus* (Hym.:
Encyrtidae) em ovos de percevejos pentatomídeos e de *Bombyx mori*
(Lep.: Bombycidae)**

ALEX POLATTO CARVALHO

DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2022

Parasitismo e desenvolvimento de *Ooencyrtus submetallicus* (Hym.: Encyrtidae) em ovos de percevejos pentatomídeos e de *Bombyx mori* (Lep.: Bombycidae)

ALEX POLATTO CARVALHO
Bacharel em Agronomia

Orientador: PROF. DR. FABRICIO FAGUNDES PEREIRA

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

Dourados
Mato Grosso Do Sul
2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

<p>Carvalho, Alex Polatto</p> <p>Parasitismo e desenvolvimento de <i>Ooencyrtus submetallicus</i> (Hym.: Encyrtidae) em ovos de percevejos pentatomídeos e de <i>Bombyx mori</i> (Lep.: Bombycidae). / Alex Polatto Carvalho. – Dourados, 2022. 87 f.</p> <p>Orientador: Professor Dr. Fabricio Fagundes Pereira</p> <p>Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal da Grande Dourados.</p> <p>1. Criopreservação. 2. Hospedeiro alternativo. 3. Endoparasitoide. 4. Percevejos da soja. I. Título.</p>
--

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.

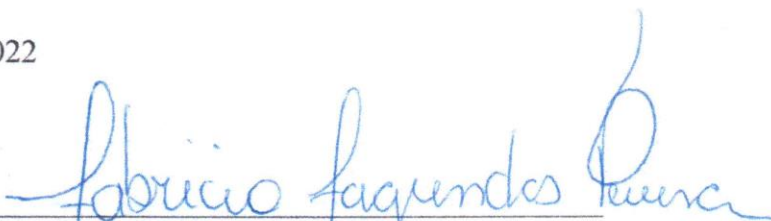
©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.

Parasitismo e desenvolvimento de *Ooencyrtus submetallicus* (Hym.: Encyrtidae) em ovos de percevejos pentatomídeos e de *Bombyx mori* (Lep.: Bombycidae)


ALEX POLATTO CARVALHO

Dissertação apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de
MESTRE EM AGRONOMIA
Área de concentração: Produção Vegetal

Aprovado em: 24/08/2022




Dr. Fabricio Fagundes Pereira
Orientador/Presidente – UFGD



Dr. Patrik Luiz Pastori
Membro Titular - UFGD



Dr^a. Ivana Fernandes da Silva
Membro Titular



Dr. Carlos Reinier Garcia Cardoso
Membro suplente - UFGD

Aos meus pais Antonio Carlos de Carvalho e

Adriana Pereira Polatto Carvalho

Ao meu pequeno irmão Alan Polatto Carvalho

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA), Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade (PPGECB) e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGAGRO) pela oportunidade de realização do Curso de Mestrado em Agronomia.

Ao Prof. Dr. Fabricio Fagundes Pereira pela orientação concedida, confiança e paciência ao longo do Mestrado.

À Prof.^a Dra. Jocélia Grazia pela identificação taxonômica dos percevejos utilizados no trabalho.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia pelos ensinamentos.

A CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela bolsa concedida.

Ao CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelo apoio financeiro para realização da pesquisa.

A FUNDECT - Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul, pelo apoio financeiro para realização da pesquisa.

Ao Grupo Vittia pelo apoio para realização da pesquisa.

À Sistêmica Kovê pelo apoio financeiro para realização da pesquisa.

A todos os colegas de faculdade e do Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) que proporcionaram amizade, caráter, ensinamentos e bons momentos no laboratório e em confraternizações.

Aos meus pais, familiares e amigos por todo apoio prestado.

A todos que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho.

“Inteligência é a habilidade das espécies para viver em harmonia com o meio ambiente.”

Paul Watson

SUMÁRIO

	PÁGINA
LISTA DE QUADROS – CAPÍTULO I	10
LISTA DE IMAGENS – CAPÍTULO I	10
LISTA DE FIGURAS – CAPÍTULO II	10
LISTA DE QUADROS – CAPÍTULO II	11
LISTA DE FIGURAS – CAPÍTULO III	11
LISTA DE QUADROS – CAPÍTULO III	11
LISTA DE IMAGENS – CAPÍTULO III	11
RESUMO GERAL	12
ABSTRACT	13
INTRODUÇÃO GERAL	14
REVISÃO DE LITERATURA	15
Cultura da soja [<i>Glycine max</i> (L.) Merrill]	15
Percevejos	16
Bicho-da-seda (<i>Bombyx mori</i>)	19
Parasitoides	19
Parasitoides de ovos	20
<i>Ooencyrtus submetallicus</i>	21
Eficiência biológica de parasitoides	22
OBJETIVO GERAL	23
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
HIPÓTESES	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
CAPÍTULO I – Biologia de <i>Ooencyrtus submetallicus</i> em ovos de percevejos pentatomídeos e de <i>Bombyx mori</i>	30
RESUMO	30
ABSTRACT	31
MATERIAL E MÉTODOS	34
ETAPA I - Criação e manutenção de insetos utilizados nos experimentos	34
ETAPA II – Desenvolvimento experimental e análises	36
RESULTADOS	36
DISCUSSÃO	37
CONCLUSÕES	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

CAPÍTULO II – Parasitismo de <i>Ooencyrtus submetallicus</i> com diferentes densidades de fêmeas em ovos de <i>Bombyx mori</i>	50
RESUMO.....	50
ABSTRACT.....	51
INTRODUÇÃO.....	52
MATERIAL E MÉTODOS.....	53
ETAPA I - Criação de insetos utilizados nos experimentos.....	53
ETAPA II – Desenvolvimento experimental e análises.....	54
RESULTADOS.....	54
DISCUSSÃO.....	55
CONCLUSÃO.....	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58
CAPÍTULO III Parasitismo e desenvolvimento de <i>Ooencyrtus submetallicus</i> em ovos de <i>Nezara viridula</i> criopreservados por diferentes períodos.....	66
RESUMO.....	66
ABSTRACT.....	67
INTRODUÇÃO.....	68
MATERIAL E MÉTODOS.....	69
ETAPA I - Criação de insetos utilizados nos experimentos.....	70
ETAPA II - Congelamento de ovos de <i>Nezara viridula</i>	70
ETAPA III – Desenvolvimento experimental.....	71
RESULTADOS.....	71
DISCUSSÃO.....	72
CONCLUSÃO.....	73
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	81
ANEXOS.....	82

LISTA DE QUADROS – CAPÍTULO I

Quadro 1. Parasitismo (%), emergência (%), duração do ciclo de vida (dias) (\pm EP), número médio de indivíduos por ovo, longevidade de fêmeas (dias) de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) parasitando ovos de hospedeiros naturais e alternativo. Dourados, MS, 2021.....42

LISTA DE IMAGENS – CAPÍTULO I

Imagem 1. (A) Adulto de *Chinavia pengue* (Hemiptera: Pentatomidae) (B) ovos com 24 horas de idade de *C. pengue*. (C) ninfas de 1º instar de *C. pengue*. (D) gaiola de criação de adultos de *C. pengue* contendo dieta e substrato para oviposição. UFGD, Dourados-MS, 2021.....43

Imagem 2. (A) Percevejo *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) (B) ovos de *N. viridula* com 24 horas de idade. UFGD, Dourados-MS, 2021.....44

Imagem 3. (A) Adulto de *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). (B) ovos de *P. nigrispinus* com 24 horas de idade. (C) ninfas de *P. nigrispinus* se alimentando de lagarta de *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae). (D) adultos de *P. nigrispinus* se alimentando de pupas de *C. includens*. UFGD, Dourados-MS, 2021.....45

Imagem 4. (A) Mariposa de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) (B) ovos de *B. mori* com 24 horas de idade. UFGD, Dourados-MS, 2021.....46

Imagem 5. (A) Adulto de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) (B) ovos com 24 horas de idade de *E. heros*. (C) ninfas de 1º instar de *E. heros*. (D) caixa com adultos de *E. heros* após coleta. UFGD, Dourados-MS, 2021.....47

LISTA DE FIGURAS – CAPÍTULO II

Figura 1. Porcentagem de parasitismo de fêmeas de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae), de diferentes densidades, em ovos de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). UFGD, Dourados, MS, 2021.....59

Figura 2. Porcentagem de emergência de fêmeas de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae), de diferentes densidades, em ovos de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). UFGD, Dourados, MS, 2021.....60

Figura 3. Número médio de indivíduos de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) gerados a partir do parasitismo de diferentes densidades de fêmeas parasitoide em ovos de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) (n=10). UFGD, Dourados, MS, 2021.....61

Figura 4. Longevidade média de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) em função de diferentes densidades de fêmeas de *O. submetallicus* obtidas do parasitismo em ovos de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). UFGD, Dourados, MS, 2021.....62

LISTA DE QUADROS – CAPÍTULO II

Quadro 1: Ciclo de vida (média±EP) de fêmeas de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae), com diferentes densidades, sobre ovos de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). UFGD, Dourados, MS, 2021.....63

LISTA DE FIGURAS – CAPÍTULO III

Figura 1. Porcentagem de parasitismo de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) em função dos diferentes dos períodos de armazenamento dos ovos de *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) armazenados em ultrafreezer a -80°C por diferentes períodos. UFGD, Dourados, MS, 2021.....76

LISTA DE QUADROS – CAPÍTULO III

Quadro 1: Características biológicas (média±EP) de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) criados em ovos de *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) armazenados por diferentes períodos em ultra freezer (-80°C). UFGD, Dourados, MS, 2021.....77

LISTA DE IMAGENS – CAPÍTULO III

Imagem 1. Emergência de fêmea de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) de ovos de *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) armazenados em ultrafreezer. UFGD, Dourados, MS, 2021.....78

RESUMO GERAL

O sucesso da utilização de insetos parasitoides em programas de controle biológico aplicado depende, inicialmente, de vários fatores. Entre esses, os estudos relacionados a biologia dos parasitoides; capacidade de busca pelo hospedeiro; proporção ideal do número de fêmeas parasitoides/hospedeiro e a qualidade durante sua produção, em hospedeiros naturais e alternativos, são indispensáveis. Portanto, nosso objetivo geral foi avaliar as características biológicas do parasitoide *Ooencyrtus submetallicus* (Howard, 1897) (Hymenoptera: Encyrtidae) parasitando ovos de *Euschistus heros* (Fabricius, 1798), *Chinavia pengue* (Rolston, 1983), *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758), *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae) e *Bombyx mori* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Bombycidae), em condições de laboratório. Bem como, testar se ovos de *N. viridula* armazenados em ultrafreezer a -80 °C por diferentes períodos são eficientes para multiplicação do *O. submetallicus*. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA/UFGD). Para isso, foram desenvolvidos os seguintes bioensaios: 1) avaliação do parasitismo e desenvolvimento de *O. submetallicus* em ovos de *E. heros*, *C. pengue*, *N. viridula*, *P. nigrispinus* ou *B. mori*; 2) avaliar a eficiência do parasitismo de ovos de *B. mori* sob diferentes densidades de fêmeas de *O. submetallicus*; e 3) avaliação da influência da temperatura de -80°C sobre as características biológicas de *O. submetallicus* parasitando ovos de *N. viridula*. Com base na avaliação das características biológicas, ovos de *E. heros*, *C. pengue*, *N. viridula*, *P. nigrispinus* e *B. mori* podem ser utilizados para criação do parasitoide, sendo este o primeiro relato para *B. mori*. Novos estudos para buscar melhorar o parasitismo e emergência em ovos de *B. mori* são necessários. As densidades de 10 e 15 fêmeas de *O. submetallicus* foram as mais adequadas para criação desse parasitoide em ovos de *B. mori*. Fêmeas de *O. submetallicus* conseguem parasitar e se desenvolver em ovos de *N. viridula* armazenados em ultrafreezer de 0 a 90 dias. Os resultados destes trabalhos são extremamente relevantes para o uso desse parasitoide em programas de controle biológico de pragas, especialmente de percevejos pentatomídeos pragas.

Palavras-chave: Criopreservação; hospedeiro alternativo; endoparasitoide; percevejos da soja.

ABSTRACT

The success of using parasitoid insects in applied biological control programs initially depends on several factors. Among these, studies related to the biology of parasitoids; host search capability; ideal proportion of the number of parasitoid females/host and the quality during their production, in natural and alternative hosts, are indispensable. Therefore, our general objective was to evaluate the biological characteristics of the parasitoid *Ooencyrtus submetallicus* (Howard, 1897) (Hymenoptera: Encyrtidae) parasitizing eggs of *Euschistus heros* (Fabricius, 1798), *Chinavia pengue* (Rolston, 1983), *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758), *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae) and *Bombyx mori* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Bombycidae), under laboratory conditions. As well as testing whether *N. viridula* eggs stored in an ultrafreezer at -80 °C for different periods are efficient for *O. submetallicus* multiplication. The experiments were carried out at the Laboratory of Biological Control of Insects (LECOBIOL) of the Faculty of Biological and Environmental Sciences (FCBA/UFGD). For this, the following bioassays were developed: 1) evaluation of the parasitism and development of *O. submetallicus* in eggs of *E. heros*, *C. pengue*, *N. viridula*, *P. nigrispinus* or *B. mori*; 2) to evaluate the efficiency of *B. mori* eggs parasitism under different densities of *O. submetallicus* females; and 3) evaluation of the influence of the temperature of -80°C on the biological characteristics of *O. submetallicus* parasitizing *N. viridula* eggs. Based on the evaluation of biological characteristics, eggs of *E. heros*, *C. pengue*, *N. viridula*, *P. nigrispinus* and *B. mori* can be used to rear the parasitoid, this being the first report for *B. mori*. Further studies to improve parasitism and emergence in *B. mori* eggs are needed. The densities of 10 and 15 females of *O. submetallicus* were the most suitable for rearing this parasitoid in *B. mori* eggs. *O. submetallicus* females can parasitize and develop in *N. viridula* eggs stored in an ultrafreezer for 0 to 90 days. The results of these works are extremely relevant for the use of this parasitoid in biological pest control programs, especially pentatomid stink bug pests.

Key words: Cryopreservation; alternate host; endoparasitoid; soybean stinkbugs.

INTRODUÇÃO GERAL

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma das principais *commodities* brasileiras, posiciona o país em segundo lugar em termos de produção e o primeiro em exportação (TOLOI et al., 2021). Com produção da cultura de 125 milhões de toneladas em 40,5 milhões de hectares na safra de 2021/2022, apresenta expectativas reais de crescimento para as próximas safras (CONAB, 2022).

No entanto, o ataque de pragas que ocorre desde o período vegetativo e se estendem até o final do reprodutivo, é um dos grandes problemas fitossanitários para se conseguir altas produtividades de soja (ÁVILA, VIVAN e TOMQUELSKI, 2013; CESB, 2018). O complexo de percevejos fitófagos da família Pentatomidae é um dos principais responsáveis por grandes prejuízos econômicos nas lavouras a cada ano, devido principalmente pelo elevado potencial de dano, dificuldades de controle e constantes reinfestações (SCOPELL et al., 2017). Durante sua alimentação, os percevejos penetram seu estilete nas vagens, causando danos e queda de produtividade, caso medidas de controle não sejam adotadas (PANIZZI et al., 2012; ÁVILA et al., 2020).

O controle dos percevejos fitófagos geralmente é realizado por meio de aplicações de defensivos químicos durante as fases de desenvolvimento da soja (ÁVILA et al., 2020) ou, ainda, através do controle biológico como por exemplo, a liberações de parasitoides de ovos (VAN LENTEREN et al., 2018).

A utilização de parasitoides em programas de controle biológico aplicado, depende inicialmente de estudos de sua biologia, conhecimento de sua reprodução em hospedeiros naturais e alternativos, da capacidade de busca e de reprodução em ovos de hospedeiros, em condições de semi campo e campo (PIÑEYRO FERREIRA, 2016).

Parasitoides, especialmente os de ovos, fazem parte de um importante grupo de agentes de controle biológico, pois impedem a eclosão das lagartas e ninfas, o que diminui danos e a população do inseto herbívoro (KOPPEL et al., 2009).

Os parasitoides do gênero *Ooencyrtus* (Ashmead, 1900) foram relatados como inimigos naturais em pragas florestais e agrícolas (HUANG e NOYES, 1994; TUNCA, 2016), dentre eles, o *Ooencyrtus submetallicus* (Howard, 1897) (Hymenoptera: Encyrtidae) está descrito na literatura parasitando ovos de diversos pentatomídeos (BUSCHMAN e WHITCOMB 1980; CORRÊA-FERREIRA e MOSCARDI, 1995; GOLIN et al., 2011; EDUARDO et al., 2018; SANOMIA et al., 2020).

No entanto, para a eficiente implantação de um programa de controle biológico é necessário que a produção dos parasitoides e predadores seja contínua, em grande escala e de baixo custo (BOURDAIS et al., 2012; COLINET e BOIVIN, 2011). Dessa forma, o estudo e aperfeiçoamento de métodos de armazenamento eficientes, permitem a rápida expansão da produção de insetos benéficos e tornam os custos de produção mais baixos (CHEN et al., 2008).

Diante do exposto, foi comparado o parasitismo de *O. submetallicus* em espécies de percevejos pentatomídeos *Euschistus heros* (Fabricius, 1798), *Chinavia pengue* (Rolston, 1983), *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) e *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758) (Hemiptera: Pentatomidae), além do hospedeiro alternativo *Bombyx mori* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Bombycidae); Avaliamos a eficiência de parasitismo e desenvolvimento sob diferentes densidades de fêmeas do parasitoide em ovos de *B. mori* e a reprodução de *O. submetallicus* em ovos de *N. viridula* armazenados por diferentes períodos em freezer especial a -80°C.

REVISÃO DE LITERATURA

Cultura da soja [*Glycine max* (L.) Merrill]

A soja *Glycine max* (L.) Merrill é de origem asiática e teve a primeira pesquisa relatada no Brasil em 1882, pelo professor Gustavo D'Utra, na região do Recôncavo Baiano. Entretanto, por não estar adaptada ao clima tropical da região, a soja não obteve êxito nesse primeiro estudo. O êxito na produção de soja no país foi obtido a partir da década de 40, quando foi semeada no Rio Grande do Sul. A cultura ganhou força a partir das décadas de 50/60 com a criação de órgãos de pesquisas, parcerias e contratação de novos pesquisadores (DALL'AGNOL, 2016).

Em 1941, houve o primeiro registro estatístico da produção de soja no país, quando foram colhidas cerca de 457 toneladas (DALL'AGNOL, 2016), depois disso a produção e a importância da cultura aumentaram consideravelmente, atingindo a marca de 140 milhões de toneladas em 2021 (CONAB, 2022). Com os preços do grão elevados na década de 70, a soja acabou sendo levada para outras regiões do país, principalmente no Cerrado, onde as terras possuíam baixo valor, com isso mais pesquisas foram sendo feitas para encontrar variedades adaptadas aos mais diferentes ambientes presentes no Brasil (DALL'AGNOL, 2016).

A soja possui um imprescindível papel no desenvolvimento da agroindústria brasileira, possuindo uma grande importância para o desenvolvimento socioeconômico brasileiro, sendo responsável por 14% das exportações do país (DALL'AGNOL, 2016).

Os usos para a soja são diversos, muitos alimentos proteicos possuem soja em sua formulação, podendo chegar a 70% na formulação de rações animais. É usada na fabricação de diversos alimentos para consumo humano, animal, além de possuir outros usos para a indústria (DALL'AGNOL, 2016).

Desde o início da soja no Brasil, muitas pesquisas foram feitas buscando um maior entendimento sobre a cultura, fertilidade e principalmente sobre as pragas e doenças que afetam a lavoura. Para se conhecer melhor as pragas da cultura, foram necessárias pesquisas buscando separar as pragas primárias das secundárias que esporadicamente se alimentavam das plantas, porém sem provocar danos econômicos (DALL'AGNOL, 2016).

Dentre os insetos-praga frequentemente encontrados na cultura da soja e que são responsáveis por causarem grandes danos estão os percevejos fitófagos da família Pentatomidae, sendo o *E. heros* o principal deles, que é responsável por perdas de até 30% na produtividade. O ataque dos percevejos é mais prejudicial no período em que as plantas estão iniciando a formação de vagens, mas podem causar danos até o período final da maturação dos grãos (ÁVILA et al., 2020).

Devido a maior ocorrência de pragas nas lavouras de soja, os defensivos químicos têm sido utilizados com frequência cada vez maior e muitas vezes de forma inadequada, o que têm levado ao aumento das contaminações ambientais e casos de resistência, além da redução das populações de inimigos naturais (CASTRO et al., 2012). Isto tem levado os produtores a buscarem tecnologias sustentáveis dentro do manejo integrado de pragas em especial bioinsumos (MEYER et al., 2022).

Percevejos

A expansão dos cultivos de soja e milho favorecem o aparecimento e crescimento populacional da população de percevejos nas lavouras. O complexo de percevejos fitófagos vem se tornando cada vez mais importantes, podendo provocar grandes danos em cultivos comerciais e sobreviver em períodos de entressafra em outras plantas hospedeiras (PANNIZI et al., 2012; CORRÊA-FERREIRA e SOSA-GOMES, 2017).

Os percevejos pentatomídeos fazem parte de uma das maiores famílias de percevejos e dentro dessa família algumas espécies são consideradas importantes pragas para na soja, como é o caso do percevejo marrom *E. heros* e o percevejo barriga verde *Diceraeus melacanthus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae). Além desses percevejos, outras espécies também podem ocorrer na cultura, como os percevejos *Chinavia* spp e *N. viridula* (PANNIZI et al., 2012).

Euschistus heros é uma espécie muito adaptada ao clima brasileiro, estando presente em grande parte dos cultivos de soja no Brasil atualmente (PANNIZI et al., 2012; BETTIOL et al., 2017). Geralmente *E. heros* aparece nas lavouras de soja no final do período vegetativo, podendo atingir grandes populações no final da maturação dos grãos. Normalmente o percevejo marrom completa três ciclos na soja e após a colheita ele passa a se alimentar de outras plantas existentes na região ou ataca a próxima cultura que é semeada no local, muitas vezes o milho. No outono *E. heros* pode buscar abrigo na palhada, ficando abrigado até o próximo cultivo, podendo ficar em estado de hibernação, sem se alimentar (CORRÊA-FERREIRA e SOSA-GOMES, 2017). A longevidade dos adultos dura em média 116 dias (PANNIZI et al., 2012) e podem ovipositar mais de 300 ovos/fêmea (CALIZOTTI et al., 2009).

Os danos provocados pelos percevejos fitófagos são importantes, pois como na maioria das vezes se alimentam das vagens e dos grãos, esses danos acabam sendo maiores, logo causam importantes perdas na produtividade, qualidade dos grãos, problemas no armazenamento, favorecendo a entrada de microrganismos nas plantas, além da injeção de toxinas (CORRÊA-FERREIRA e SOSA-GOMES, 2017).

Os percevejos *Chinavia* spp são polípagos e considerados pragas secundárias, ocorrendo por todo o Brasil. A cor predominante dos adultos é verde com mancha preta no ângulo basal do escutelo, já as ninfas no geral apresentam coloração preta com manchas. O tempo médio de desenvolvimento dos ovos varia de 6 a 8 dias, período ninfal de 30 a 45 dias e longevidade dos adultos pode passar dos 100 dias. As fêmeas podem ovipositar uma média de 80 a 220 ovos (SCHWERTNER; GRAZIA, 2007), contendo em cada postura 14 ovos em média (MATESCO et al., 2007).

O percevejo *N. viridula* tem distribuição por todo o planeta (PANIZZI et al., 2000). É uma espécie que já foi mais abundante nas lavouras de soja no Brasil, sua ocorrência vem diminuindo na cultura (KUSS et al., 2012).

O percevejo *N. viridula* é uma espécie polífaga atacando diferentes culturas, inclusive a soja, apresenta coloração em geral verde, com diferenças na tonalidade, podem

atingir até 1,7 cm de tamanho e as fêmeas podem sobreviver por mais de 100 dias (PANIZZI et al., 2012). As fêmeas possuem capacidade de ovipositar mais de 290 ovos (AZAMBUJA et al., 2014) agrupados em massas hexagonais com até 200 ovos (PANIZZI et al., 2012).

As ninfas de *N. viridula* de 1º instar apresentam coloração alaranjada, já no 2º e 3º instares possuem coloração preta com manchas brancas e somente após o 3º instar que as ninfas passam a apresentar coloração preta com manchas brancas e somente após o 3º instar o percevejo passa a apresentar coloração verde com manchas brancas (TODD, 1989; PANIZZI et al., 2012).

Além dos percevejos fitófagos, também existem algumas espécies que são predadores, sendo utilizados em programas de controle biológico, como o que é realizado com o percevejo *P. nigrispinus* (PANNIZI et al., 2012).

O percevejo predador *P. nigrispinus* possui as fases de ovo, ninfa e adulto (BUENO et al., 2012). O tempo necessário para passar pelos ciclos de ovo até emergência dos adultos dura em torno de 18 a 30 dias, variando conforme condições ambientais e nutricionais (TORRES et al., 2006).

Ao eclodirem, as ninfas de 1º instar possuem coloração escura, quase preta, de até 1,4 mm de comprimento (BUENO et al., 2012). Ninfas de 2º instar apresentam as mesmas características que ninfas de 1º instar, porém são maiores, com até 2,5 mm (TORRES et al., 2006) e já iniciam a alimentação. A partir do 3º até o 5º instar, as ninfas passam a apresentar coloração avermelhada com manchas escuras no abdômen (BUENO et al., 2012).

Adultos de *P. nigrispinus* possuem longevidade média de 1 a 3 meses, diferenciam-se das ninfas pela coloração e por apresentarem hemiélitro formado e espinhos laterais no pronoto (BUENO et al., 2012). A coloração dos adultos difere das ninfas, sendo esverdeada para os machos e marrom-avermelhado para as fêmeas, atingindo cerca de 1,2 cm (TORRES et al., 2006).

Ovos de *P. nigrispinus* possuem coloração variável, sendo esbranquiçados quando são recém-ovipositados, mudando para cinza conforme envelhecem e avermelhados quando estão perto da eclosão. As fêmeas possuem capacidade de ovipositar, em média, 300 ovos durante seu ciclo, que são colocados em massas de ovos de número variável, de 1 a 40 ovos (TORRES et al., 2006).

Bicho-da-seda (*Bombyx mori*)

A criação do bicho-da-seda *B. mori*, também conhecida como sericicultura, teve início há milhares de anos na China. A sericicultura engloba a criação do inseto, do seu alimento, que é a amoreira (*Morus* sp.) e a produção da seda (SANTOS et al, 2016). É uma atividade com técnicas de criação já bem conhecidas e grande parte da criação do bicho da seda é realizada por pequenos produtores, geralmente agricultura familiar, pois como é uma atividade de baixo impacto ambiental, permite a produção em áreas pequenas e sem o uso de muita sofisticação (BRANCALHÃO et al., 2004; SANTOS et al, 2016).

O bicho da seda é um inseto holometábolo, ou seja, possui os estágios de ovo, larva, pupa e adultos. São insetos que devido a sua domesticação pelo Homem perderam a capacidade de voar, apesar de possuírem asas. As fêmeas realizam postura de cerca de 400 ovos (PORTO et al., 2004), quando fecundados sua coloração é amarelada, depois rosados, alaranjados e por fins cinzentos. Uma característica que os ovos de *B. mori* possuem é uma mucilagem que tornam os ovos muito duros, que é uma característica da espécie para proteger contra inimigos e atrasar o desenvolvimento dos ovos (SANTOS et al, 2016).

Parasitoides

Diferentemente dos insetos predadores que necessitam de várias presas para completarem seu ciclo de vida, os parasitoides necessitam de somente um hospedeiro, do qual se alimentam, para completarem seu ciclo de vida, já o adulto possui vida livre. Estimativas apontam para existência de cerca de 200 mil espécies de parasitoides, distribuídas entre as ordens Diptera e Hymenoptera, podendo ser classificados como endoparasitoides ou ectoparasitoides, gregários ou solitários, conforme seu tipo de desenvolvimento (PARRA et al., 2002).

Parasitoides que se desenvolvem no exterior do corpo dos insetos são chamados de ectoparasitoides, enquanto os insetos que realizam seu ciclo no interior do corpo dos insetos são denominados de endoparasitoides. A divisão entre parasitoides solitários ou gregários está relacionada ao número de parasitoides desenvolvido no hospedeiro, onde apenas um parasitoide se desenvolve é chamado de parasitoide solitário, porém se mais

de um parasitoide se desenvolver no hospedeiro então é chamado de parasitoide gregário (PARRA et al., 2002).

Na soja, os parasitoides mais estudados e pesquisados estão relacionados aos hemípteros e lepidópteros, já que são as pragas mais abundantes nas lavouras, possuindo assim grande relevância tanto para o controle natural das pragas quanto para o manejo integrado de pragas (CORRÊA-FERREIRA e SOSA-GOMES, 2017).

Parasitoides de ovos

Parasitoides de percevejos são importantes inimigos naturais por usarem ovos depositados na parte aérea das plantas para o seu desenvolvimento, sendo muitas vezes responsáveis por manter as populações dos percevejos em níveis mais baixos (BUENO et. al., 2012).

A grande maioria dos parasitoides possuem hábitos generalistas, atacando diferentes espécies de percevejos, no entanto alguns parasitoides demonstram preferência por algumas espécies de percevejo, como no caso do percevejo *E. heros* que é muito atacado pelo parasitoide *Telenomus podisi* (Ashmead, 1893) (Hymenoptera: Platygasteridae) (BUENO et. al., 2012; SILVA et al., 2018; OLIVEIRA, 2021).

A incidência dos parasitoides nas lavouras é fortemente influenciado pelo manejo adotado em cada lavoura, por serem insetos muito sensíveis, dependendo do produto químico utilizado no local pode também afetar as populações dos parasitoides (BUENO et. al., 2012).

Pesquisas foram desenvolvidas para estudar a viabilidade do uso de parasitoides de ovos. Duas espécies passaram a ser mais utilizadas em programas de controle biológico de percevejos, que são os parasitoides *Trissolcus basalus* (Wollaston, 1858) (Hymenoptera: Scelionidae) e *T. podisi* (BUENO et al., 2012; OLIVEIRA, 2021), no entanto, devido às mudanças climáticas com o consequente aumento de temperatura, o parasitoide *T. podisi* passou a ser o parasitoide mais adequado para o controle da maioria das espécies de percevejos que ocorrem nas lavouras de soja no Brasil (OLIVEIRA, 2021).

O uso do controle biológico para percevejos possui bom potencial de utilização podendo ser mais uma ferramenta para auxiliar no controle de pragas reduzindo a pressão sobre os princípios ativos registrados para os percevejos, reduzindo os riscos de ocorrerem resistência das pragas aos defensivos químicos utilizados (OLIVEIRA, 2021).

Ooencyrtus submetallicus

Ooencyrtus possui grande importância por ser um gênero muito diverso e difundido por todo o mundo. Diversas espécies são reconhecidas por serem inimigos naturais de pragas agrícolas, possuindo assim um grande potencial em programas de manejo de pragas. É muito relatado como parasitoide de pragas florestais (HUANG e NOYES, 1994; SAMRA et al., 2018). Grande parte das espécies são parasitoides de ovos de hemípteros ou lepidópteros, no entanto existem espécies que parasitam outras famílias como Diptera e Coleoptera (HUANG e NOYES, 1994).

Ooencyrtus submetallicus possui reprodução por partenogênese telítoca, onde os descendentes são geralmente todas fêmeas, nascendo machos em condições específicas de temperatura. Os machos dessa espécie possivelmente não possuem função, pois o macho até persegue as fêmeas, porém sem sucesso na cópula, não afetando assim a reprodução das fêmeas (WILSON e WOOLCOCK, 1960).

Ooencyrtus submetallicus é um parasitoide de ovos, sendo sua ocorrência relatada naturalmente em ovos de diversos percevejos e outros insetos. Foi usado na Austrália na década de 1950 para o controle do percevejo *N. viridula*. O parasitoide faz a postura de um ou vários ovos no interior do ovo hospedeiro, onde irá completar seu ciclo biológico até a emergência dos adultos, podendo sair mais de um parasitoide por hospedeiro parasitado (WILSON e WOOLCOCK, 1960).

Para que programas de controle biológico tenham sucesso, principalmente os que utilizam parasitoides, são necessários diversos estudos, como idade do hospedeiro e parasitoide, período de parasitismo, armazenamento de parasitoides e hospedeiros em baixas temperaturas para serem usados posteriormente e utilização de hospedeiros alternativos, caso contrário, ocorre grandes chances de os programas não prosperarem (PIÑEYRO FERREIRA, 2016).

Para a multiplicação massal do parasitoide, são necessários estudos da biologia do parasitoide, como parasitismo, emergência, progênie, duração do ciclo de vida, razão sexual e longevidade. Com essas características avaliadas é possível estabelecer as melhores condições de criação para os parasitoides com a melhor eficiência (PEREIRA et al., 2004).

Existem relatos do parasitoide *O. submetallicus* parasitando naturalmente ovos de diversos hospedeiros, sendo *N. viridula* nos Estados Unidos (WILSON e

WOOLCOCK, 1960) e Brasil (BUSCHMAN e WHITCOMB 1980; CORRÊA-FERREIRA e MOSCARDI, 1995), *Edessa meditabunda* (Fabricius, 1794) (GOLIN et al. 2011), foi também encontrado parasitando ovos de *Erinnyis ello* (Linneaus, 1758) (Lepidoptera: Sphingidae) (SILVA, 2017). Apesar das pesquisas, as informações sobre sua biologia, métodos de multiplicação e uso em programas de controle biológico ainda são poucos, necessitando de mais estudos (PIÑEYRO FERREIRA, 2016).

Eficiência biológica de parasitoides

Ultimamente vem ocorrendo um grande crescimento no uso do controle biológico na América Latina, enquanto a América do Norte é o maior produtor e a Europa é o maior consumidor de produtos para controle biológico (VAN LENTEREN et al., 2018).

O controle biológico possui diversas vantagens em relação aos produtos químicos, como menores riscos de contaminação ambiental, não provoca resistência de pragas aos produtos utilizados além de ser mais seguros para quem aplica ou reside próximos das áreas agrícolas (VAN LENTEREN et al., 2018).

Estudos de biologia, capacidade de busca e parasitismo em hospedeiros em condições de laboratório e campo, ciclo de vida, emergência de indivíduos, longevidade dos parasitoides e razão sexual são apenas alguns parâmetros importantes para se conhecer e com isso fazer com que os programas de controle biológico tenham sucesso (PIÑEYRO FERREIRA, 2016; TIAGO, 2019)

Estudos avaliando a interação entre parasitoides e hospedeiros permitem determinar as melhores idades para uso do parasitoide, tanto em criações em laboratório, quanto para uso em programas de controle biológico. Em relação ao *O. submetallicus*, o parasitismo de ovos é fortemente influenciado pela idade do parasitoide, sendo 120 horas a melhor idade para conseguir um ótimo parasitismo, a partir desse tempo a qualidade do parasitoide começa a decrescer (FACA et al., 2021).

Testes do parasitoide em ovos armazenados em nitrogênio líquido por diferentes períodos, apontaram que o armazenamento de ovos em temperaturas criogênicas é eficiente, porém existe diferença entre os diferentes hospedeiros. Por meio dessa técnica é possível armazenar ovos em períodos do ano que ocorra abundância de ovos e utilizá-los em momentos de escassez de hospedeiros (SANOMIA, 2019).

Estudos sobre a temperatura ideal para liberações de parasitoides e desenvolvimento são importantes para avaliar as melhores condições para criação e uso dos parasitoides em programas de controle biológico. O parasitoide *O. submetallicus* se reproduz na faixa de temperatura entre 19°C e 31°C (CHAVES et al., 2021).

Bioensaios buscando analisar a seletividade de agrotóxicos aos parasitoides são importantes para que se verifique como os produtos afetam os parasitoides e com isso saber a melhor forma de uso dos agrotóxicos, buscando sempre que possível utilizar os seletivos aos organismos biológicos. Estudos de seletividade para *O. submetallicus* indicaram que os princípios ativos novaluron e teflubenzuron foram classificados como Classe 1 (inofensivos para o parasitoide), beta-ciflutrina + imidacloprido como Classe 3 (moderadamente nocivo); e lambda-cialotrina + tiametoxam e metomil como Classe 4 (nocivo ao parasitoide). Dessa forma é importante que se busque substituir produtos não seletivos (Classe 3 e 4) para produtos seletivos (Classe 1), permitindo assim uma maior sobrevivência de insetos benéficos na lavoura (SANOMIA et al., 2020).

Para multiplicação dos parasitoides em laboratório e em criações massais é necessário saber a melhor proporção de parasitoides e hospedeiros utilizados. Para *O. submetallicus* a proporção de 1:6 parasitoides e hospedeiros em um período de 24 horas foi a melhor combinação (SANOMIA et al., 2021).

Com base no exposto, torna-se fundamental o conhecimento da biologia do parasitoide *O. submetallicus*, sendo assim, este trabalho busca comparar hospedeiros naturais e alternativo, através de métodos de conservação de hospedeiros em baixas temperaturas e densidade de parasitoides utilizando *B. mori* como hospedeiro alternativo, servindo de base para estudos posteriores com esse parasitoide em condições de semi campo e no campo.

OBJETIVO GERAL

Avaliar as características biológicas de *O. submetallicus* parasitando ovos de *E. heros*, *C. pengue*, *N. viridula*, *P. nigrispinus* e de *B. mori*, em condições de laboratório. Bem como, testar se ovos de *N. viridula* armazenados em ultrafreezer a -80°C por diferentes períodos serão eficientes para multiplicação de *O. submetallicus* em laboratório.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1- Avaliar o parasitismo e desenvolvimento de *O. submetallicus* em ovos de *E. heros*, *C. pengue*, *N. viridula*, *P. nigrispinus* e de *B. mori*;
- 2- Avaliar a eficiência de parasitismo de *O. submetallicus* em ovos de *B. mori* sob diferentes densidades de fêmeas do parasitoide.
- 3- Avaliar a influência da temperatura de -80°C sobre as características biológicas de *O. submetallicus* parasitando ovos de *N. viridula* armazenados por diferentes períodos;

HIPÓTESES

- 1- *Ooencyrtus submetallicus* consegue se reproduzir em ovos de diferentes hospedeiros com a mesma eficiência;
- 2- Ovos de *B. mori* podem ser utilizados para criação de *O. submetallicus* independente da densidade de fêmeas desse parasitoide.
- 3- *Ooencyrtus submetallicus* consegue parasitar e se desenvolver em ovos armazenados a -80°C em ultrafreezer por diferentes períodos;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ÁVILA, C. J.; FERNANDES, P. H. R.; SILVA, I. F. Ações de controle do percevejo-marrom na soja. **Cultivar**, p. 30-35, 2020.
- ÁVILA, C. J.; VIVAN, M. L. TOMQUELSKI, G. V. Ocorrência, aspectos biológicos, danos e estratégias de manejo de *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) nos sistemas de produção agrícolas. **Embrapa Agropecuária Oeste**, v. 23, p. 1-12, 2013.
- AZAMBUJA, R.; DEGRANDE, P. E.; PEREIRA, F. F.; PASTORI, P. L. Biologia de ninfas e adultos do percevejo-verde em estruturas reprodutivas de algodoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, p. 416-421, 2014.
- BETTIOL, W.; HAMADA, E.; ANGELOTTI, F.; AUAD, A. M.; GHINI, R. **Aquecimento global e problemas fitossanitários**. Brasília - DF: Embrapa, p. 488, 2017.
- BRANCALHÃO, R. M. C.; TORQUATO, E. F. B.; SOARES, M. A. M.; BILHA, J. K. Bicho da seda: montagem do ciclo de vida. **Arquivos da APADEC**, v. 8, p. 58-60, 2004.
- BOURDAIS, D.; VERNON, P.; KRESPI, L.; VAN BAAREN J. Behavioural consequences of cold exposure on males and females of *Aphidius rhopalosiphi* de *Stephani perez* (Hymenoptera: Braconidae). **BioControl**, v. 57, p. 349–360, 2012.
- BUENO, A. D. F.; PANIZZI, A. R.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; GAZZONI, D. L.; ROGGIA, S. **Histórico e evolução do manejo integrado de pragas da soja no Brasil**. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. Soja: Manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. Brasília, DF: Embrapa, p. 37-74, 2012 a.
- BUENO, A. F.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; CÔRREA-FERREIRA, B. S., MOSCARDI, F.; BUENO, R. C. O. F. **Inimigos naturais das pragas da soja**. In: HOFFMANN-CAMPO, B. C.; CÔRREA-FERREIRA, B. S.; MORCARDI, F. Soja: Manejo Integrado de Insetos e outros Artrópodes-Praga. Embrapa, Brasília, p. 493-630. 2012 b.
- BUSCHMAN, L. L.; WHITCOMB, W. H. Parasites of *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) and other Hemiptera in Florida. **Florida Entomologist**, v. 63, p. 154-162, 1980.
- CALIZOTTI, G. S.; SILVA, F. A. C.; ROSISCA, J. R.; PANIZZI, A. R. Quantificação da produção de ovos e sobrevivência de percevejos fitófagos em sistemas de criação em laboratório. **Embrapa Soja**, v. 4, p. 197-202, 2009.
- CASTRO, A. A.; LACERDA, M. C., ZANUNCIO, T. V., RAMALHO, F. S.; POLANCZYK, R. A.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C. Effect of the insect growth regulator diflubenzuron on the predator *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Ecotoxicology**, v. 21, p. 96-103, 2012.

CESB. **Soja: quebrando recordes**: CESB: 10 anos de máxima produtividade. Brasil. P. 216, 2018. Disponível em: <http://www.cesbrasil.org.br/wp-content/uploads/2019/01/LIVRO-10-ANOS-CESB-WEB.pdf>. Acesso: Junho de 2020.

CHAVES, V. F.; PEREIRA, F. F.; TORRES, J. B.; SILVA, I. F.; PASTORI, P. L.; OLIVEIRA, H. N.; COSTA, V. A.; CARDOSO, C. R. G. Thermal Requirements of *Ooencyrtus submetallicus* (Hym.: Encyrtidae) and *Telenomus podisi* (Hym.: Platygastriidae) Parasitizing *Euschistus heros* Eggs (Hem.: Pentatomidae). **Insects**, v. 12, p. 01-13, 2021.

CHEN, W. L.; LEOPOLD, R.; HARRIS, M. O. Cold storage effects on maternal and progeny quality of *Gonatocerus ashmeadi* Girault (Hymenoptera: Mymaridae). **Biological Control**, v. 46, p. 122–132, 2008.

COLINET, H.; BOIVIN, G. Insect parasitoids cold storage: A comprehensive review of factors of variability and consequences. **Biological Control**, v. 58, p. 83–95, 2011.

CONAB. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**. Brasília, v. 7, p. 1-104. 2020. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>. Acesso em: Março de 2022.

CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. Seasonal occurrence and host spectrum of egg parasitoids associated with Soybean stink bugs. **Biological Control**, v. 5, p. 196-202, 1995.

CORRÊA-FERREIRA, B. S.; SOSA-GÓMEZ, D. R. **Percevejos e o sistema de produção soja/milho**. Londrina: Embrapa Soja, p. 98, 2017.

DALL'AGNOL, A. **A Embrapa Soja no contexto do desenvolvimento da soja no Brasil: histórico e contribuições**. Brasília, Embrapa, 2016, 71 p.

EDUARDO, W. I.; TOSCANO, L. C.; TOMQUELSKI, G.V.; MARUYAMA, W. I.; MORANDO, R. Action thresholds for the Soybean stink bug complex: phytotechnical and physiological parameters and egg parasitism. **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 44, p. 165-171, 2018.

FACA, E. C.; PEREIRA, F. F.; FERNANDES, W. C.; SILVA, I. F.; COSTA, V. A.; WENGRAT, A. P. G. S. Reproduction of *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) and *Trissolcus sp. aff. urichi* (Hymenoptera: Scelionidae) in Eggs of *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) of Different Ages. **Journal of Agricultural Science**, v. 13, p. 96-106, 2021.

GOLIN, V.; LOIÁCONO, M. S.; MARGARÍA, C. B.; AQUINO, D. A. Natural incidence of egg parasitoids of *Edessa meditabunda* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) on *Crotalaria spectabilis* in Campo Novo do Parecis, MT, Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 40, p. 617-618, 2011.

HUANG, D. W.; NOYES, J. S. A revision of the Indo-Pacific species of *Ooencyrtus* (Hymenoptera: Encyrtidae), parasitoids of the immature stages of economically important

insects species (mainly Hemiptera and Lepidoptera). **Bulletin of the Natural History Museum**, v. 63, p. 1-136, 1994.

KOPPEL, A. L.; HERBERT JR. D. A.; KUHAR, T. P.; KAMMINGA, K. Survey of stink bug (Hemiptera: Pentatomidae) egg parasitoids in wheat, soybean, and vegetable crops in southeast Virginia. **Environmental Entomology**, v. 38, p. 375-379, 2009.

KUSS, C. C.; TOALDO, V. D. B.; BERGHETTI, J.; PIAS, O. H. C.; KUSS-ROGGIA, R. C. R.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; BASSO, C. J.; SANTI, A. L.; ROGGIA, S. **Porcentagem de espécies de percevejos pentatomídeos ao longo do ciclo da soja no Norte do Paraná**. In: VII JORNADA ACADÊMICA DA EMBRAPA SOJA, Embrapa Soja, p. 30-34, 2012

MATESCO, V. C.; SCWERTNER, C. F.; GRAZIA, J. Descrição dos estágios imaturos e biologia de *Chinavia pengue* (Hemíptera: Pentatomidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 51, p. 93-100, 2007.

MEYER, M. C.; BUENO, A. de F.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. da. **Bioinsumos na cultura da soja**. Embrapa Soja, 2022, 550 p.

OLIVEIRA, R. C. de. Utilização de *Telenomus podisi* no manejo de *Euschistus heros*. In: PARRA, J. R. P.; PINTO, A. de S.; NAVA, D. E.; OLIVEIRA, R. C. de; DINIZ, A. J. F. **Controle Biológico com parasitoides e predadores na agricultura brasileira**. Piracicaba: FEAQ, p. 235-247, 2021.

PANIZZI, A. R.; BUENO, A. F.; SILVA, F. A. C. **Insetos que atacam vagens e grãos**. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. Brasília-DF, p. 335-420, 2012.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. **Controle biológico: uma visão inter e multidisciplinar**. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J. M. S. Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores. São Paulo: Manole, p.125-142, 2002.

PEREIRA, F. F.; BARROS, R.; PRATISSOLI, D. Desempenho de *Trichogramma pretiosum* Riley e *T. exiguum* Pinto & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) submetidos a diferentes densidades de ovos de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Ciência Rural**, v. 34, p. 1669-1674, 2004.

PIÑEYRO FERREIRA, N. G. ***Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae): um potencial parasitoide de *Euschistus heros* e *Chinavia pengue* (Hemiptera: Pentatomidae)**. Dourados, 2016, 76 p.

PORTO, A. J.; OKAMOTO, F.; CUNHA, E. A. da; OTSUK, I. P. Caracterização de oito raças do bicho-da-seda (*Bombyx mori* L.). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, p. 259-264, 2004.

SAMRA, S.; CASCONI, P.; NOYES, J.; GHANIM, M.; PROTASOV, A.; GUERRIERI, E.; MENDEL, Z. Diversity of *Ooencyrtus* spp. (Hymenoptera: Encyrtidae) parasitizing

the eggs of *Stenozygum coloratum* (Klug) (Hemiptera: Pentatomidae) with description of two new species. **Plos one**, v. 13, p. 1-23, 2018.

SANOMIA, W. Y. **Técnicas de produção de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) de seletividade de inseticidas**. Dissertação Mestrado, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2019, 106 p.

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, p. 1-8, 2020.

SANOMIA, W. Y.; PEREIRA, F. F.; SILVA, I. F. da; CARDOSO, C. R. G; LUCCHETTA, J. T. Reproduction of *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) in egg densities of *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae). **Canadian Entomologist**, v. 153, p. 1-10, 2021.

SANTOS, V. C.; SOUZA, K. A.; ABRANTES, R. S. X.; SANTOS, C. L. A.; SOARES, D. M. A.; LOIOLA, M. V. C.; LIMA, P. M. F.; SANTOS, E. L. A. Sericicultura: colhendo os frutos da criação do bicho-da-seda. **INTESA – Informativo Técnico do Semiárido**, v. 10, p. 62-68, 2016.

SCHWERTNER, C. F.; GRAZIA, J. O gênero *Chinavia* Orian (Hemiptera: Pentatomidae, Pentatominae) no Brasil, com chave pictórica para os adultos. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 51, p. 416-435, 2007.

SCOPEL, W.; SALVADORI, J. R.; PANIZZI, A. R.; PEREIRA, P. R. V. da S. Danos de *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) em soja infestada no estádio de grão cheio. **Agropecuária Catarinense**, v. 29, p. 81-84, 2017.

SILVA, A. S. **Controle biológico de *Erinnyis Ello* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Sphingidae) com parasitoides na cultura da mandioca**. Tese Doutorado, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados Dourados, 2017, 85 p.

TIAGO, E. F. **Biologia comparada de *Tetrastichus howardi*, *Trichospilus diatraeae* e *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) em lagartas e pupas de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae)**. Tese Doutorado, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2019, 30 p.

TORRES, J. B.; ZANUNCIO, J. C.; MOURA, M. A. The predatory stinkbug *Podisus nigrispinus*: biology, ecology and augmentative releases for lepidopteran larval control in Eucalyptus Forest in Brazil. **CAB REVIEWS: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**, v. 1, p. 1-18, 2006.

TODD, J. W. Ecology and behavior of *Nezara viridula*. **Annual Review of Entomology**, v. 34, p. 273-292, 1989.

TOLOI, M. N. V.; BONILLA, S. H.; TOLOI, R. C.; SILVA, H. R. O.; NÄÄS, I. D. A. Development Indicators and Soybean Production in Brazil. **Agriculture**, v. 11, 2021, 1164 p.

TUNCA, H.; BURADINO, M.; COLOMBEL, E. A.; TABONE, E. Tendency and consequences of superparasitism for the parasitoid *Ooencyrtus pityocampae* (Hymenoptera: Encyrtidae) in parasitizing a new laboratory host, *Philosamia ricini* (Lepidoptera: Saturniidae). **European Journal of Entomology**, v. 113, p. 51-59, 2016.

VAN LENTEREN, J. C.; BOLCKMANS, K.; KOHL, J.; RAVENSBERG, W. J.; URBANEJA, A. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. **Biological Control**. v. 63, p. 39-59, 2018.

WILSON, F.; WOOLCOCK, L. T.; Temperature determination of sex in a parthenogenetic parasite, *Ooencyrtus submetallicus* (Howard) (Hymenoptera: Encyrtidae). **Australian Journal of Zoology**, v. 8, p. 153-169, 1960.

CAPÍTULO I – Biologia de *Ooencyrtus submetallicus* em ovos de percevejos pentatomídeos e de *Bombyx mori*

RESUMO

Ooencyrtus submetallicus (Howard, 1897) (Hymenoptera: Encyrtidae) é um eficiente parasitoide de ovos de diversos insetos. Avaliamos seu parasitismo e desenvolvimento em ovos dos percevejos *Euschistus heros* (Fabricius, 1798), *Chinavia pengue* (Rolston, 1983), *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851), *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758) (Hemiptera: Pentatomidae) e do bicho-da-seda *Bombyx mori* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Bombycidae). Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA/UFGD). Para cada hospedeiro foi utilizado um total de 100 ovos com 24 horas de idade e 10 fêmeas do parasitoide com 120 horas de idade. Foram feitas 10 repetições, sendo que cada repetição havia 10 ovos do hospedeiro e 1 fêmea do parasitoide. Após 24 horas de exposição as porcentagens de parasitismo de *O. submetallicus*, foram de 79,00 ± 8,09; 69,00 ± 9,00; 71,00 ± 9,00; 67,00 ± 4,73 e 26,00 ± 5,21% em ovos de *E. heros*, *N. viridula*, *P. nigrispinus*, *B. mori* e *C. pengue*, respectivamente. Com relação à porcentagem de emergência de *O. submetallicus* em ovos de percevejos, todos tiveram resultados semelhantes, sendo de 62,17 ± 10,48; 80,83 ± 8,96; 79,37 ± 9,55 e 85,55 ± 10,08% para *P. nigrispinus*, *C. pengue*, *N. viridula* e *E. heros*, respectivamente. Enquanto a emergência do parasitoide em ovos de *B. mori* foi de 18,44 ± 5,95%. A duração do ciclo de vida de *O. submetallicus* foi semelhante em ovos de *P. nigrispinus*, *C. pengue*, *N. viridula* e *B. mori* sendo de 16,67 ± 0,29; 16,90 ± 0,10; 17,00 ± 0,00 e 17,00 ± 0,00 dias, respectivamente. Enquanto, em ovos de *E. heros*, a duração do ciclo de vida do parasitoide foi de 16,00 ± 0,00 dias. O número de indivíduos por ovo obtidos em ovos de *C. pengue* foi de 2,62 ± 0,33. Para *P. nigrispinus*, *E. heros* e *B. mori*, os resultados encontrados foram de 1,63 ± 0,18; 1,70 ± 0,06 e 1,58 ± 0,27, respectivamente. A longevidade de fêmeas de *O. submetallicus* emergidas em ovos de percevejos foram semelhantes, porém, maiores quando comparadas às fêmeas emergidas de ovos de *B. mori*. Com base na avaliação das características biológicas, ovos de *E. heros*, *C. pengue*, *N. viridula*, *P. nigrispinus* e *B. mori* podem ser utilizados para criação do parasitoide, sendo este o primeiro relato de parasitismo de *O. submetallicus* em ovos de *B. mori*. No entanto, mais estudos devem ser priorizados para melhorar a capacidade adaptativa, parasitismo e emergência de *O. submetallicus* em ovos do hospedeiro alternativo *B. mori*. Uma vez que, o insucesso de um programa de controle biológico, muitas vezes, pode estar relacionado à escolha inadequada do hospedeiro durante a criação em larga escala.

Palavras-chave: Controle biológico; parasitoide de ovos; hospedeiro alternativo, capacidade adaptativa.

CHAPTER I - Biology of *Ooencyrtus submetallicus* reared eggs of pentatomid bugs and *Bombyx mori*

ABSTRACT

Ooencyrtus submetallicus (Howard, 1897) (Hymenoptera: Encyrtidae) is an efficient egg parasitoid of several insects. We evaluated its parasitism and development in eggs of stinkbugs *Euschistus heros* (Fabricius, 1798), *Chinavia pengue* (Rolston, 1983), *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae), *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758) (Hemiptera: Pentatomidae) and the silkworm *Bombyx mori* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Bombycidae). The experiments were carried out at the Laboratory of Biological Control of Insects (LECOBIOL) of the Faculty of Biological and Environmental Sciences (FCBA/UFGD). A total of 100 eggs with 24 hours of age and 10 females of the parasitoid with 120 hours of age were used for each host, which were introduced into glass tubes. There were 10 repetitions, and each repetition had 10 eggs of the host and 1 female of the parasitoid. The percentages of parasitism were $79,00 \pm 8,09$; $69,00 \pm 9,00$; $71,00 \pm 9,00$; $67,00 \pm 4,73$ and $26 \pm 5,21\%$ in eggs of *E. heros*, *N. viridula*, *P. nigrispinus*, *B. mori* and *C. pengue*, respectively. Regarding the percentage of emergence of *O. submetallicus* in stinkbug eggs, all of them had similar results, being $62,17 \pm 10,48$; $80,83 \pm 8,96$; $79,37 \pm 9,55$ and $85,55 \pm 10,08\%$ for the species *P. nigrispinus*, *C. pengue*, *N. viridula* and *E. heros*, respectively. While the emergence of the parasitoid in *B. mori* eggs was $18,44 \pm 5,95\%$. The life cycle duration of *O. submetallicus* was similar in eggs of *P. nigrispinus*, *C. pengue*, *N. viridula* and *B. mori*, being $16,67 \pm 0,29$; $16,90 \pm 0,10$; $17,00 \pm 0,00$ and $17,00 \pm 0,00$ days, respectively. The duration of the parasitoid life cycle in *E. heros* eggs was $16,00 \pm 0,00$ days. The number of individuals per egg obtained from *C. pengue* eggs was $2,62 \pm 0,33$. For *P. nigrispinus*, *E. heros* and *B. mori*, the results found were $1,63 \pm 0,18$; $1,70 \pm 0,06$ and $1,58 \pm 0,27$, respectively. The longevity of females of *O. submetallicus* emerged from stink bug eggs were similar, however, higher when compared to females emerged from eggs of *B. mori*. Based on the evaluation of biological characteristics, eggs of *E. heros*, *C. pengue*, *N. viridula*, *P. nigrispinus* and *B. mori* can be used to create the parasitoid, this being the first report of parasitism of *O. submetallicus* in eggs of *B. mori*. However, studies should be prioritized to seek to improve parasitism and emergence in *B. mori* eggs.

Keywords: Biological control; egg parasitoid; alternate host; adaptive capacity

INTRODUÇÃO

A expansão do cultivo de soja no Brasil, principalmente nas regiões de Cerrado, favoreceu o aumento de diversas pragas (WIEST e BARRETO, 2012). Somado a isso, as mudanças que ocorreram no ambiente agrícola, desde alterações dos períodos da semeadura; adoção de novas tecnologias e cultivares; e as intensas mudanças climáticas, contribuíram para a diversificação e crescimento das populações de insetos fitófagos. Entre eles, os percevejos pentatomídeos assumiram importância entre as pragas que ocorrem na cultura (CORRÊA-FERREIRA e SOSA-GÓMEZ, 2017).

O percevejo-marrom *Euschistus heros* (Fabricius, 1798) (Hemiptera: Pentatomidae) é a espécie que possui maior ocorrência nas lavouras e responsável pelos maiores danos econômicos aos sojicultores (CORRÊA-FERREIRA e SOSA-GÓMEZ, 2017). Somados a isso, essa espécie desenvolveu resistência aos principais princípios ativos utilizados na soja, como o lambda-cialotrina e beta-ciflutrina (PITTA et al., 2018; SOMAVILLA et al., 2020) tornando o manejo cada vez mais difícil. Porém, com a adoção do manejo integrado de pragas - MIP; monitoramentos constantes; uso de defensivos nas dosagens adequadas e seletivos aos inimigos naturais é possível manter as populações dessas pragas abaixo do nível de dano econômico (CORRÊA-FERREIRA e SOSA-GÓMEZ, 2017)

Além de *E. heros*, o percevejo barriga-verde *Diceraeus melacanthus* (Dallas, 1851) e o percevejo-verde *Nezara viridula* (Linnaeus 1758) (Hemiptera: Pentatomidae) que já foi muito mais comum e hoje possui baixa ocorrência, variando de intensidade dependendo da região, e os percevejos do gênero *Chinavia* sp. também são encontrados na soja, porém em baixas populações e por isso são consideradas pragas secundárias (PANNIZI et al., 2012).

De maneira geral, para evitar problemas com a ocorrência de pragas na lavoura, deve-se adotar diferentes formas de manejo para as pragas, começando pelo monitoramento, que permite verificar quais insetos estão ocorrendo em maior número e saber se precisa ou não de um controle para reduzir a população (CORRÊA-FERREIRA e SOSA-GÓMEZ, 2017).

A adoção do MIP, busca adotar estratégias de amostragens e, se necessário, controle para as pragas, adotando preferencialmente o controle biológico, pois assim dificulta o desenvolvimento de resistência nas espécies alvo do controle. E caso seja necessário, o controle químico, optando por produtos seletivos aos inimigos naturais para

preservar o maior número de insetos benéficos no ambiente agrícola (CORRÊA-FERREIRA e SOSA-GÓMEZ, 2017).

A busca por lavouras de soja ambientalmente sustentáveis, a adoção do controle biológico vem assumindo um papel cada vez maior nesse processo (CORRÊA-FERREIRA e SOSA-GÓMEZ, 2017). Dentro do controle biológico destaca-se os parasitoides, que diferentemente dos predadores que necessitam de várias presas para seu desenvolvimento, os parasitoides possuem ao menos uma fase de desenvolvimento associada ao seu hospedeiro (FONTES e VALADARES-INGLIS, 2020). Os parasitoides podem ser classificados entre gregários ou solitários, depende de quantos se desenvolvem no mesmo hospedeiro e, posteriormente, de acordo com o desenvolvimento deles no hospedeiro podem ser classificados em endoparasitoides ou ectoparasitoides, quando o desenvolvimento ocorre dentro ou fora do corpo do hospedeiro, respectivamente (PARRA et al., 2002; BUENO et al., 2012; FONTES e VALADARES-INGLIS, 2020).

Parasitoides de ovos são um dos grupos mais importantes de agentes de controle biológico, sendo responsáveis muitas vezes por manter as populações de insetos-praga em baixos níveis de dano econômico nas lavouras (BUENO et al., 2012). Todos pertencem à ordem Hymenoptera e muitos são generalistas, parasitando diferentes hospedeiros, o que facilita a criação massal em hospedeiros alternativos (PARRA, 2002; BUENO et al., 2012).

O gênero *Ooencyrtus* (Ashmead, 1900) frequentemente descrito como parasitoide de pragas agrícolas e florestais (HUANG e NOYES, 1994; TUNCA, 2016) possui a capacidade de parasitar diversas espécies. O parasitoide *Ooencyrtus submetallicus* (Howard, 1987) (Hymenoptera: Encyrtidae) foi relatado parasitando ovos de *E. heros* (CHAVES et al., 2021; SANOMIA et al., 2021); *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) (CORRÊA-FERREIRA e MOSCARDI, 1995); *Edessa meditabunda* (Fabricius, 1794) (GOLIN et al. 2011); *N. viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) (BUSCHMAN e WHITCOMB 1980; FACA et al., 2021) e de *Erinnyis ello* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Sphingidae) (SILVA, 2017).

Como *O. submetallicus* já foi relatado parasitando ovos de lepidópteros (NOYES 1985; SILVA, 2017), procuramos utilizar *Bombyx mori* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Bombycidae) como hospedeiro alternativo, pelo fato de ser uma espécie com alta produção de ovos, cerca de 400 (PORTO et al., 2004), facilidade de obtenção de ovos grandes, com cerca de 1 mm, indicando que podem ser adequados ao desenvolvimento do parasitoide.

Desta forma, comparamos o desenvolvimento de *O. submetallicus* em ovos de hospedeiros naturais *E. heros*, *C. pengue*, *N. viridula* e *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae) e do hospedeiro alternativo *B. mori* em condições de laboratório.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos nas dependências do Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL), pertencente a Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

ETAPA I - Criação e manutenção de insetos utilizados nos experimentos

Parasitoide *Ooencyrtus submetallicus*

Adultos de *O. submetallicus* (Anexo 2) foram mantidos em tubos de vidro (1,0 cm x 10,0 cm) vedados com algodão, e no interior do tubo, foi adicionado uma gotícula de mel para a alimentação do parasitoide. Dez ovos do percevejo *D. melacanthus*, fixados com goma arábica a 20% em cartela de papel cartolina azul celeste (1 x 0,5 cm), foram oferecidos aos parasitoides para sua reprodução (FACA et al., 2021).

A criação foi conduzida em câmara climatizada tipo BOD (modelo EL 222, ELETROLab[®], São Paulo, SP, Brasil) com temperatura de 25°C ± 2°C, umidade relativa do ar 70 ± 10% UR e fotofase de 14 horas. O parasitoide foi coletado pelo Dr. Antonio de Souza Silva, em ovos de *Edessa meditabunda* (Fabricius 1974) (Hemiptera: Pentatomidae) em plantas de tomate *Solanum lycopersicum* (Linnaeus, 1753) (Solanales: Solanaceae), na região de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. A identificação foi realizada pelo especialista Dr. Valmir Antonio Costa do Instituto Biológico de São Paulo.

Percevejos fitófagos

Os percevejos foram coletados em lavouras de soja na fazenda experimental (FAECA) da UFGD na região de Dourados – MS, sendo identificados por meio de manuais de identificação de pragas e depois confirmado pela Dra. Jocélia Grazia, taxonomista de percevejos pentatomídeos (Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS).

Os insetos foram criados em caixas plásticas no LECOBIO. Nas gaiolas foram inseridos chumaços de algodão para oviposição dos percevejos *E. heros* e *D. melachantus*, já para os percevejos *C. pengue* e *N. viridula* a oviposição era realizada em papel dobrado tipo leque. A água foi fornecida em placas de petri com um chumaço de algodão. Todos os percevejos foram alimentados com vagens verdes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), sementes de ligustro (*Ligustrum* sp.), grãos crus de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) e grãos secos de soja (*Glycine max*). Parte dos ovos produzidos diariamente eram destinados para a manutenção dos percevejos em laboratório e o restante para experimentos e manutenção das colônias de parasitoides. A criação foi estabelecida e conduzida em sala climatizada com temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 14h (SILVA et al., 2008; CALIZOTTI e PANIZZI, 2010; FACA et al, 2021).

Percevejo *Podisus nigrispinus*

Os percevejos predadores foram coletados em lavouras na região de Dourados e Três Lagoas – MS, sendo identificados por meio de manuais de identificação de insetos e depois confirmado pela especialista em percevejos pentatomídeos, Dra. Jocélia Grazia, taxonomista da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS. Os insetos foram mantidos no LECOBIO em sala climatizada ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, fotofase de 14 horas e UR de $70 \pm 10\%$). Para manutenção da criação, os ovos foram mantidos em placas de Petri até a eclosão das ninfas. Como as ninfas começam a se alimentar apenas a partir do 2º estágio, nessa fase elas eram transferidas para potes plásticos transparentes de 1 litro, com o fornecimento de água em placas de petri com um chumaço de algodão (TAGUTI et al., 2019).

Ninfas e adultos foram criados nesses potes, separados por estágio para evitar competição e foram alimentados com larvas e pupas de *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae) provenientes da criação estoque do LECOBIO. Os adultos eram transferidos para caixas maiores para acasalarem e realizarem a oviposição. Os ovos eram retirados diariamente para manutenção de colônias do parasitoide, montagem do experimento e para continuidade da criação do percevejo em laboratório.

Bicho-da-seda *Bombyx mori*

Pupas de *B. mori* foram adquiridas de sericultores na região de Glória de Dourados, MS, que realizam a criação comercial do Bicho-da-seda. As pupas foram

mantidas no LECOBIOOL até a emergência dos adultos em temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e umidade relativa do ar de $60 \pm 10\%$ UR e fotofase de 14h. A retirada dos ovos era feita diariamente e os ovos que sobravam eram armazenados em nitrogênio líquido.

ETAPA II – Desenvolvimento experimental e análises

Parasitismo de *Ooencyrtus submetallicus* em ovos de percevejos e bicho da seda *Bombyx mori*

Ovos de *C. pengue* (Imagem 1), *N. viridula* (Imagem 2), *P. nigrispinus* (Imagem 3), *B. mori* (Imagem 4) e *E. heros* com 24 horas de idade foram fixados em papel cartolina azul celeste (0,5 x 1,00 cm) com goma arábica 20% na densidade de 10 ovos. Foram utilizados 10 tubos de vidro (1,00 cm x 6,00 cm) para cada espécie de hospedeiro testado. Em cada repetição foi utilizada uma fêmea de *O. submetallicus* de 120 horas de idade (FACA et al., 2021) e uma cartela contendo 10 ovos de hospedeiro. No interior de cada tubo de vidro foi colocado uma gotícula de mel para alimentação do parasitoide (Anexo 1).

O parasitismo foi permitido por 24 horas, e após este período, as fêmeas foram retiradas e as cartelas contendo os ovos foram mantidas em câmaras climatizadas tipo BOD com temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 14h, onde permaneceram até a emergência dos descendentes.

Após a emergência dos parasitoides, as características biológicas avaliadas foram: número de indivíduos por ovo; duração do ciclo de vida (ovo-adulto); porcentagem de parasitismo $[(n^\circ \text{ de ovos escuros}/n^\circ \text{ total de ovos}) \times 100]$ e de emergência $[(n^\circ \text{ de ovos com orifício}/n^\circ \text{ de parasitados}) \times 100]$ e longevidade dos descendentes. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), com 5 tratamentos (espécies de hospedeiro) e 10 repetições (sendo cada repetição uma fêmea parasitando 10 ovos/hospedeiro). Os dados foram submetidos a análise de variância e teste de Tukey à 5% de probabilidade de erro, utilizando o software estatístico SigmaPlot 30-Day Trial, sob o serial “775050001”.

RESULTADOS

Parasitismo de *Ooencyrtus submetallicus* em ovos de percevejos e bicho da seda *Bombyx mori*

As porcentagens de parasitismo entre as quatro espécies de percevejos tiveram diferença significativa apenas para *C. pengue*, onde obteve um resultado de $26,00 \pm 5,21\%$. Enquanto para *E. heros*, *N. viridula* e *P. nigrispinus* as porcentagens de parasitismos foram de $79,00 \pm 8,09$; $69,00 \pm 9,00$ e $71,00 \pm 9,00\%$, respectivamente. E para *B. mori* o parasitismo foi de $67,00 \pm 4,73\%$ (Quadro 1).

Com relação à emergência de *O. submetallicus*, em ovos de percevejos, todos tiveram resultados semelhantes, sendo de $62,17 \pm 10,48$; $80,83 \pm 8,96$; $79,37 \pm 9,55$ e $85,55 \pm 10,08\%$ para as espécies *P. nigrispinus*, *C. pengue*, *N. viridula* e *E. heros*, respectivamente, já a emergência em ovos de *B. mori* foi de $18,44 \pm 5,95\%$ (Quadro 1).

A duração do ciclo de vida apresentou resultados estatisticamente iguais para as espécies *P. nigrispinus*, *C. pengue*, *N. viridula* e *B. mori* sendo de $16,67 \pm 0,29$; $16,90 \pm 0,10$; $17,00 \pm 0,00$ e $17,00 \pm 0,00$ dias, respectivamente. Enquanto, em ovos de *E. heros* a duração do ciclo de vida do parasitoide foi de $16,00 \pm 0,00$ dias (Quadro 1).

O número médio de indivíduos oriundos de ovos de *C. pengue* foi de $2,62 \pm 0,33$, valor superior aos demais hospedeiros, que apresentaram resultados intermediários. Para as espécies *N. viridula*, *P. nigrispinus*, *E. heros* e *B. mori*, os resultados encontrados foram de $1,84 \pm 0,10$; $1,63 \pm 0,18$; $1,70 \pm 0,06$ e $1,58 \pm 0,27$, respectivamente (Quadro 1).

Fêmeas emergidas de ovos de percevejos tiveram resultados de longevidade inferiores às fêmeas nascidas de ovos de *B. mori*. Os resultados encontrados para os ovos de *P. nigrispinus*, *C. pengue*, *N. viridula* e *E. heros* foram de $5,90 \pm 0,28$; $7,00 \pm 0,68$; $5,20 \pm 0,37$ e $7,00 \pm 0,33$ dias, respectivamente. Enquanto para *B. mori* o resultado avaliado foi de $10,10 \pm 1,22$ dias (Quadro 1).

DISCUSSÃO

Ooencyrtus submetallicus conseguiu parasitar os diferentes hospedeiros testados. Resultado bastante promissor foi o parasitismo de ovos de *B. mori*, indicando assim o primeiro registro de parasitismo da espécie pelo parasitoide *O. submetallicus*, em condições de laboratório, podendo servir de opção para multiplicação do parasitoide para uso em programas de controle biológico.

As porcentagens de emergência do parasitoide emergidos dos ovos de percevejos foram satisfatórias, uma vez que porcentagens acima de 72% em condições de laboratório são consideradas adequadas, pois indicam boa qualidade do hospedeiro para o completo desenvolvimento dos parasitoides (OLIVEIRA et al., 2008; BUENO et al., 2009). Esse

fator indica a adaptação do *O. submetallicus* pelos ovos de percevejos para criação do parasitoide e também para um eficiente controle da praga no campo em um programa de controle biológico. Trabalhos adicionais são necessários para confirmarem as capacidades do parasitoide em um ambiente de sem campo e campo, onde poderão ter suas capacidades de busca e parasitismo das presas avaliadas em condições naturais. A baixa emergência do *O. submetallicus* em ovos de *B. mori* pode estar relacionado ao fato dos parasitoides terem sido criados em ovos de percevejos, ou seja, apresentam pouca ou nula capacidade adaptativa, porém mesmo assim conseguiram se desenvolver em ovos de outra espécie de hospedeiro.

A duração do ciclo do parasitoide foi semelhante entre os hospedeiros testados, sendo menor para *E. heros*, com 16 dias e para as outras espécies variando de 16, 67 até 17 dias, em temperatura de 25°C. Em programas de controle de pragas com liberações do parasitoide a campo, a duração do ciclo de vida é importante, pois está relacionado a quantidade de gerações alcançadas pelo parasitoide, pois para *O. submetallicus* esse período dura em torno de 60% do ciclo de vida do seu hospedeiro, *E. heros*, que dura em torno de 28,4 dias (PANIZZI, 2013). Em trabalhos realizados, o ciclo do parasitoide ficou em torno dos 17 dias até 19 dias (PANIZZI, 2013; CHAVES et al., 2021; FACA et al., 2021; SANOMIA et al., 2021)

A longevidade está relacionada ao período de sobrevivência do parasitoide, período esse influenciado por oferta de alimento, temperatura ou outras condições de estresse (OLIVEIRA, 2018). O parasitoide *O. submetallicus* obteve uma maior longevidade, $10,10 \pm 1,22$ dias, quando criado no hospedeiro *B. mori*. Quando criado nos percevejos *P. nigrispinus*, *C. pengue*, *N. viridula* e *E. heros*, as longevidades foram de $5,90 \pm 0,28$, $7,00 \pm 0,68$, $5,20 \pm 0,37$, $7,00 \pm 0,33$ dias respectivamente. Porém, se a oferta de alimento for abundante, a longevidade do parasitoide pode chegar a 18 dias (CHAVES et al., 2021) e 22 dias (PIÑEYRO FERREIRA, 2016; SANOMIA et al., 2021). Diversos fatores podem afetar a duração da longevidade dos parasitoides, como o tipo de hospedeiro utilizado, se consegue suprir as necessidades do parasitoide, condições ambientais, busca por hospedeiro e disponibilidade de alimento (PACHECO e CORRÊA-FERREIRA, 1998).

Todos os descendentes de *O. submetallicus* originados foram fêmeas. Em programas de controle biológico isso é uma vantagem, pois são as fêmeas que realizam o parasitismo dos hospedeiros, controle das pragas e a geração de descendentes reduzindo as gerações de insetos pragas no campo e não precisam realizar a cópula para poder gerar

descendentes fêmeas (UÇKAN e GULEL, 2002; BUENO et al, 2008; FÁVERO et al. 2014).

O número de indivíduos por ovos gerados foram $1,63 \pm 0,18$, $1,70 \pm 0,06$, $1,84 \pm 0,10$ e $2,62 \pm 0,33$ para as espécies de percevejos, *P. nigrispinus*, *E. heros*, *N. viridula* e *C. pengue*, respectivamente. Em ovos de *B. mori*, a quantidade de indivíduos por ovo encontrada foi de $1,58 \pm 0,27$. O parasitismo de *O. submetallicus* em ovos de *E. heros* e *C. pengue*, resultou em número de indivíduos por ovo de $1,73 \pm 0,04$ e $3,10 \pm 0,13$, respectivamente (FERREIRA, 2016). Trabalho realizado com diferentes densidades de ovos de *E. heros* para fêmeas de *O. submetallicus*, foi obtido uma média geral de 1,40 indivíduos por ovos, variando de 1,78 na densidade de 3 ovos para cada fêmea e 0,91 em 15 ovos do hospedeiro para cada fêmea do parasitoide (SANOMIA et al., 2021). Já em estudos realizados utilizando o hospedeiro *Erinnyis ello* (Linneaus, 1758) (Lepidoptera: Sphingidae), o número encontrado foi de 2,08 indivíduos por ovo (SILVA, 2017). A variação do número de indivíduos por ovos está relacionada ao superparasitismo dos ovos, além também do tamanho do ovo hospedeiro (TUNCA, 2017).

Ooencyrtus submetallicus parasita e se desenvolve em hospedeiros naturais e alternativos. Em relação ao hospedeiro *B. mori*, os resultados encontrados são promissores, primeiro por não ter registro ainda de parasitismo dos ovos de *B. mori* por *O. submetallicus* e segundo por ser uma grande oportunidade para novos estudos com esse hospedeiro em potencial. São necessários novos estudos em novas condições para avaliar a eficiência do parasitoide nesse hospedeiro, pois os ovos foram bem parasitados, porém com baixa emergência. Para a produção massal do parasitoide é necessário um hospedeiro que produza grande quantidade de ovos e com baixo custo, o que se torna um pouco mais complexo em relação aos percevejos *E. heros*, *C. pengue*, *N. viridula* e *P. nigrispinus* que necessitam de grandes populações para manter a alta produção de ovos.

CONCLUSÕES

Ovos de *E. heros*, *C. pengue*, *N. viridula*, *P. nigrispinus* e *B. mori* podem ser utilizados para criação do parasitoide, sendo este o primeiro relato para *B. mori*. No entanto, novos estudos devem ser priorizados para melhorar a capacidade adaptativa, parasitismo e emergência de *O. submetallicus* em ovos de *B. mori*.

AGRADECIMENTOS

A CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela concessão de bolsa de estudo. À Dra. Jocelia Grazia do Departamento de Zoologia UFRGS pela identificação das espécies de pentatomídeos. Ao CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo apoio financeiro para realização da pesquisa. A FUNDECT - Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul, pelo apoio financeiro para realização da pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BUENO, R. C. O. F.; CARNEIRO, T. R.; PRATISSOLI, D.; BUENO, A. F.; FERNANDES, O. A. Biology and thermal requirements of *Telenomus remus* reared on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* eggs. **Ciência Rural**, v. 38, p. 01-06, 2008.
- BUENO, R. C. O. F.; PARRA, J. R. P.; BUENO, A. F.; HADDAD, M. Desempenho de Tricogramatídeos como Potenciais Agentes de Controle de *Pseudoplusia includens* Walker (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, v. 38, p. 389-394, 2009.
- BUENO, A. F.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F.; BUENO, R. C. O. F. Inimigos naturais das pragas da soja. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (Ed.). **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Brasília, DF: Embrapa, p. 493-629, 2012.
- BUSCHMAN, L. L.; WHITCOMB, W. H. Parasites of *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) and other Hemiptera in Florida. **Florida Entomologist**, v. 63, p. 154-162, 1980.
- CALIZOTTI, G. S.; PANIZZI, A. R. Comportamento exploratório de ninfas recém eclodidas de *Edessa meditabunda* (F.) (Heteroptera: Pentatomidae) sobre a superfície dos córions. In: **JORNADA ACADÊMICA DA EMBRAPA SOJA**, Londrina, p. 67-69, 2010.
- CARVALHO, A. P.; OLIVEIRA, F. M.; PEREIRA, F. F. **Biologia comparada de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera Encyrtidae) em ovos de Lepidoptera**. In ENEPEX 2018, Dourados, UFGD, 2018. 2577 p. Disponível em: <<http://eventos.ufgd.edu.br/enepex/anais/>>. Acesso em: 20 out. 2021.
- CHAVES, V. F.; PEREIRA, F. F.; TORRES, J. B.; SILVA, I. F.; PASTORI, P. L.; OLIVEIRA, H. N.; COSTA, V. A.; CARDOSO, C. R. G. Thermal Requirements of *Ooencyrtus submetallicus* (Hym.: Encyrtidae) and *Telenomus podisi* (Hym.: Platygasteridae) Parasitizing *Euschistus heros* Eggs (Hem.: Pentatomidae). **Insects**, v. 12, p. 1-13, 2021.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. Seasonal occurrence and host spectrum of egg parasitoids associated with Soybean stink bugs. **Biological Control**, v. 5, p. 196-202, 1995.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; SOSA-GÓMEZ, D. R. **Percevejos e o sistema de produção soja/milho**. Londrina: Embrapa Soja, 2017, 98 p.
- FACA, E. C.; PEREIRA, F. F.; FERNANDES, W. C.; SILVA, I. F.; COSTA, V. A.; WENGRAT, A. P. G. S. Reproduction of *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) and *Trissolcus sp. aff. urichi* (Hymenoptera: Scelionidae) in Eggs of *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) of Different Ages. **Journal of Agricultural Science**, v. 13, p. 96-106, 2021.

FAVERO, K.; PEREIRA, F.; KASSAB, S.; COSTA, D.; ZANUNCIO, J. Life and Fertility Tables of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) With *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) Pupae. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 107, p. 621-626, 2014.

FERREIRA, N. G. P. *Ooencyrtus submetallicus* (HYMENOPTERA: ENCYRTIDAE): UM POTENCIAL PARASITOIDE DE *Euschistus heros* E *Chinavia pengue* (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE). Dissertação Mestrado, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2016, 76 p.

FONTES, E. M. G.; VALADARES-INGLIS, M. C. **Controle biológico de pragas da agricultura**. Brasília, EMBRAPA, 2020, 510 p. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1121825>. Acesso em: Fevereiro de 2022.

GOLIN, V.; LOIÁCONO, M. S.; MARGARÍA, C. B.; AQUINO, D. A. Natural incidence of egg parasitoids of *Edessa meditabunda* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) on *Crotalaria spectabilis* in Campo Novo do Parecis, MT, Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 40, p. 617-618, 2011.

HUANG, D. W.; NOYES, J. S. A revision of the Indo-Pacific species of *Ooencyrtus* (Hymenoptera: Encyrtidae), parasitoids of the immature stages of economically important insects species (mainly Hemiptera and Lepidoptera). **Bulletin of the Natural History Museum**, v. 63, p. 1-136, 1994.

NOYES, J. S. A review of the Neotropical species of *Ooencyrtus* Ashmead, 1900 (Hymenoptera: Encyrtidae). **Journal of Natural History**, London, v. 19, p. 533-554, 1985.

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**, v. 66, p. 103-110, 2018.

PANIZZI, A. R. History and contemporary perspectives of the integrated pest 342 management of soybean in Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 42, p. 119-127, 2013.

PANIZZI, A. R.; BUENO, A. F.; SILVA, F. A. C. Insetos que atacam vagens e grãos. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Brasília. P. 859, 2012.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. Controle biológico: uma visão inter e multidisciplinar. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J. M. S. **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, p. 125-142, 2002.

PITTA, R. M.; RODRIGUES, S. M. M.; VIVAN, L. M.; BIANCHIN, K. A. Suscetibilidade de *Euschistus heros* (Fabr. 1794) (Heteroptera: Pentatomidae) a inseticidas em Mato Grosso. **Scientific Electronic Archives**, v. 11, p. 1-5, 2018.

SANOMIA, W. Y.; PEREIRA, F. F.; SILVA, I. F.; CARDOSO, C. R. G.; LUCCHETTA, J. T. Reproduction of *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) in egg densities of *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae). **The Canadian Entomologist**, v. 154, p. 1-10, 2021.

SILVA, A. S. **Controle biológico de *Erinnyis ello* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Sphingidae) com parasitoides na cultura da mandioca**. Tese Doutorado, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2017, 85 p.

SILVA, C. C.; LAUMANN, R. A.; BLASSIOLI, M. C.; PAREJA, M.; BORGES, M. Técnica de criação massal de *Euschistus heros* para a multiplicação de *Telenomus podisi*. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 43, p. 575-580, 2008.

SOMAVILLA, J. C.; REIS, A. C.; GUBIANI, P. da S.; GODOY, D. N.; STÜRMER, G. R.; BERNARDI, O. Susceptibility of *Euschistus heros* and *Dichelops furcatus* (Hemiptera: Pentatomidae) to Selected Insecticides in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 113, p. 924-931, 2020.

TAGUTI, E. A.; GONÇALVES, J.; BUENO, A. F.; MARCHIORO, S. T. *Telenomus podisi* parasitism on *Dichelops melacanthus* and *Podisus nigrispinus* eggs at different temperatures. **Florida Entomologist**, v. 102, p. 607-613, 2019.

TUNCA, H.; BURANDINO, M.; COLOMBEL, E.; TABONE, E. Tendency and consequences of superparasitism for the parasitoid *Ooencyrtus pityocampae* (Hymenoptera: Encyrtidae) in parasitizing a new laboratory host, *Philosamia ricini* (Lepidoptera: Saturniidae). **European Journal of Entomology**, v. 113, p. 51-59, 2016.

TUNCA, H.; COLOMBEL, E.; VENARD, M.; TABONE, E. Incidence of superparasitism in the egg parasitoid, *Ooencyrtus kuvanae* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae). **Biocontrol Science and Technology**, v. 27, p. 796-808, 2017.

UÇKAN F, GULEL A. Age-related fecundity and sex ratio variation in *Apanteles galleriae* (Braconidae) and host effect on fecundity and sex ratio of its hyperparasitoid *Dibrachys boarmiae* (Hym., Pteromalidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 126, p. 534-537, 2002.

WIEST, A.; BARRETO, M. R. Evolução dos Insetos-Praga na Cultura da Soja no Mato Grosso. **EntomoBrasilis**, v. 5, p. 84-87, 2012.

WILSON, F.; WOOLCOCK, L. T.; Temperature determination of sex in a parthenogenetic parasite, *Ooencyrtus submetallicus* (Howard) (Hymenoptera: Encyrtidae). **Australian Journal of Zoology**, v. 8, p. 153-169, 1960.

Quadro 1. Parasitismo (%), emergência (%), duração do ciclo de vida (dias) (\pm EP), número médio de indivíduos por ovo, longevidade de fêmeas (dias) de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) parasitando ovos de hospedeiros naturais e alternativo. Dourados, MS, 2021

Hospedeiros	Parasitismo (%)	Emergência (%)	Duração do ciclo de vida (dias)	Indivíduo/ovo (n)	Longevidade ♀ (dias)
<i>Podisus nigrispinus</i>	71,00 \pm 9,00 a	62,17 \pm 10,48 a	16,67 \pm 0,29 a	1,63 \pm 0,18 b	5,90 \pm 0,28 b
<i>Chinavia pengue</i>	26,00 \pm 5,21 b	80,83 \pm 8,96 a	16,90 \pm 0,10 a	2,62 \pm 0,33 a	7,00 \pm 0,68 b
<i>Nezara viridula</i>	69,00 \pm 9,00 a	79,37 \pm 9,55 a	17,00 \pm 0,00 a	1,84 \pm 0,10 ab	5,20 \pm 0,37 b
<i>Euschistus heros</i>	79,00 \pm 8,09 a	85,56 \pm 10,08 a	16,00 \pm 0,00 b	1,70 \pm 0,06 b	7,00 \pm 0,33 b
<i>Bombyx mori</i>	67,00 \pm 4,73 a	18,44 \pm 5,95 b	17,00 \pm 0,00 a	1,58 \pm 0,27 b	10,10 \pm 1,22 a
CV	37,71	44,31	2,55	32,95	29,70

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

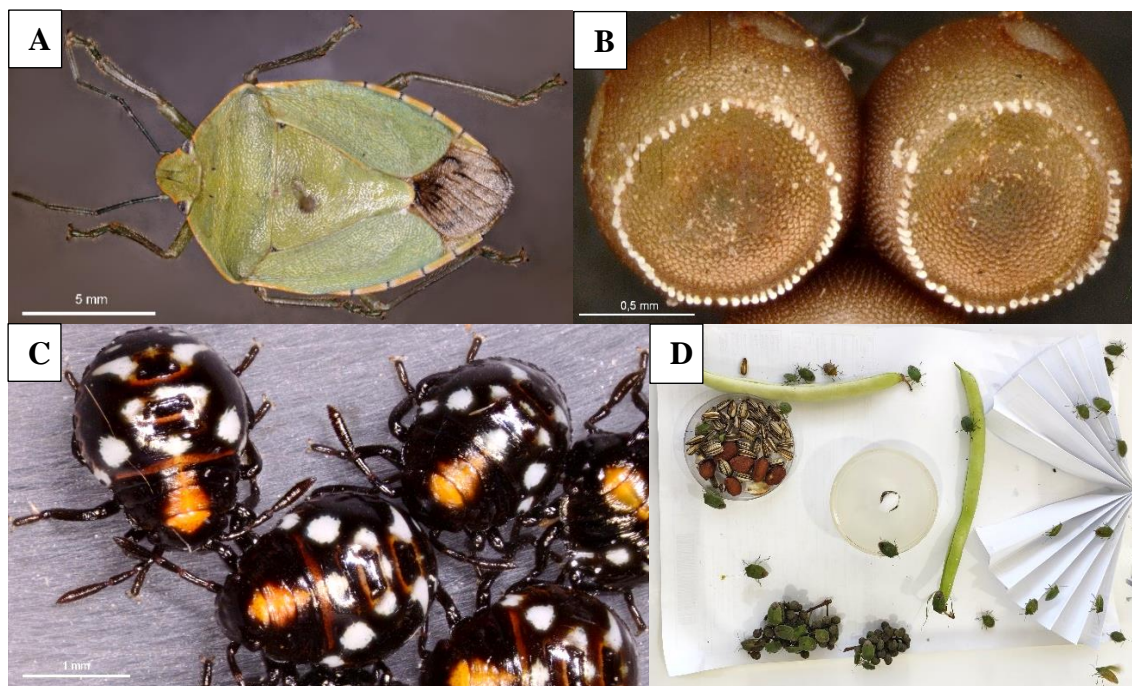


Imagem: CARVALHO, A. P.

Imagem 1. (A) Adulto de *Chinavia pengue* (Hemiptera: Pentatomidae) (B) ovos com 24 horas de idade de *C. pengue*. (C) ninfas de 1º instar de *C. pengue*. (D) detalhe da gaiola de criação de adultos de *C. pengue* contendo dieta e substrato para oviposição. UFGD, Dourados-MS, 2021.

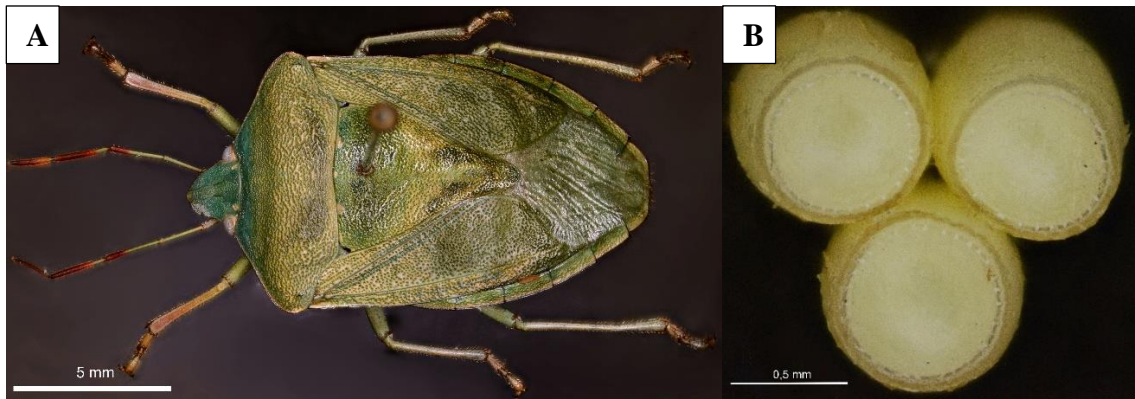


Imagem: CARVALHO, A. P.

Imagem 2. (A) Percevejo *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) (B) ovos de *N. viridula* com 24 horas de idade (Hemiptera: Pentatomidae). UFGD, Dourados-MS, 2021.

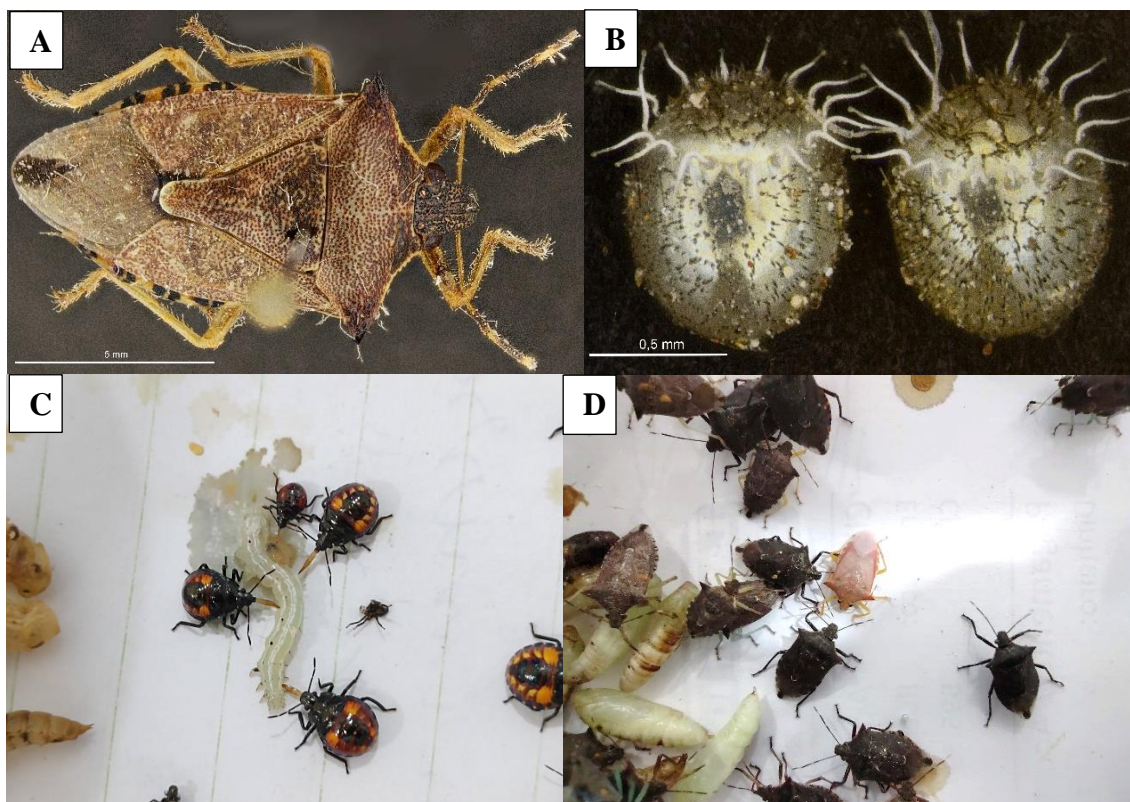


Imagem: CARVALHO, A. P.

Imagem 3. (A) Adulto de *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). (B) ovos de *P. nigrispinus* com 24 horas de idade. (C) ninfas de *P. nigrispinus* se alimentando de lagarta de *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae). (D) adultos de *P. nigrispinus* se alimentando de pupas de *C. includens*. UFGD, Dourados-MS, 2021.

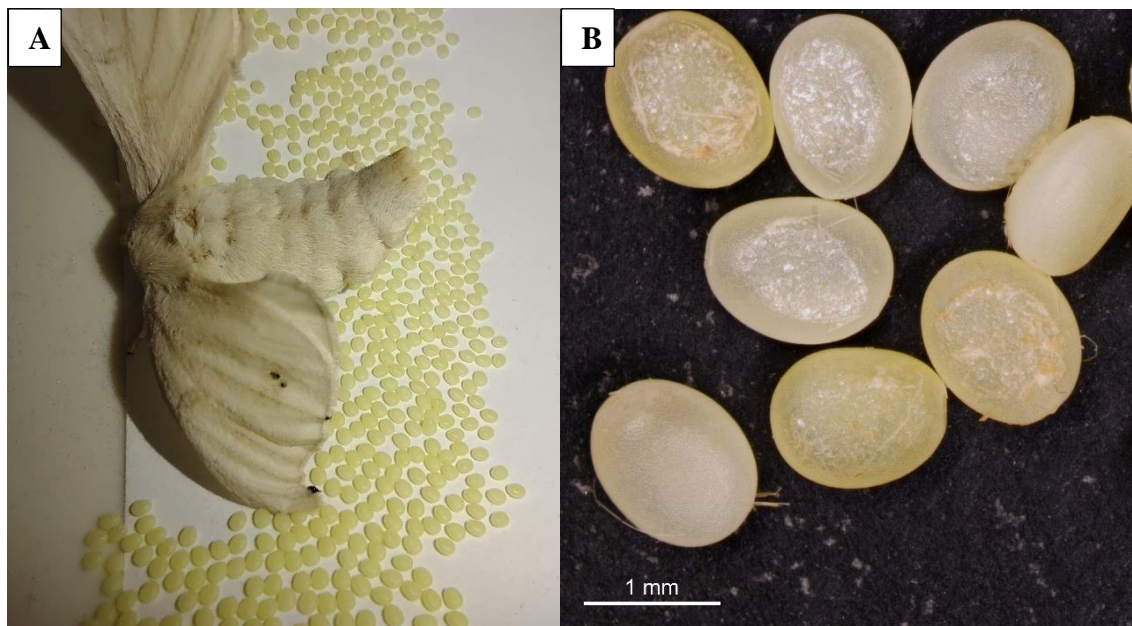


Imagem 4. (A) Mariposa de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) (B) ovos de *B. mori* com 24 horas de idade. UFGD, Dourados-MS, 2021.

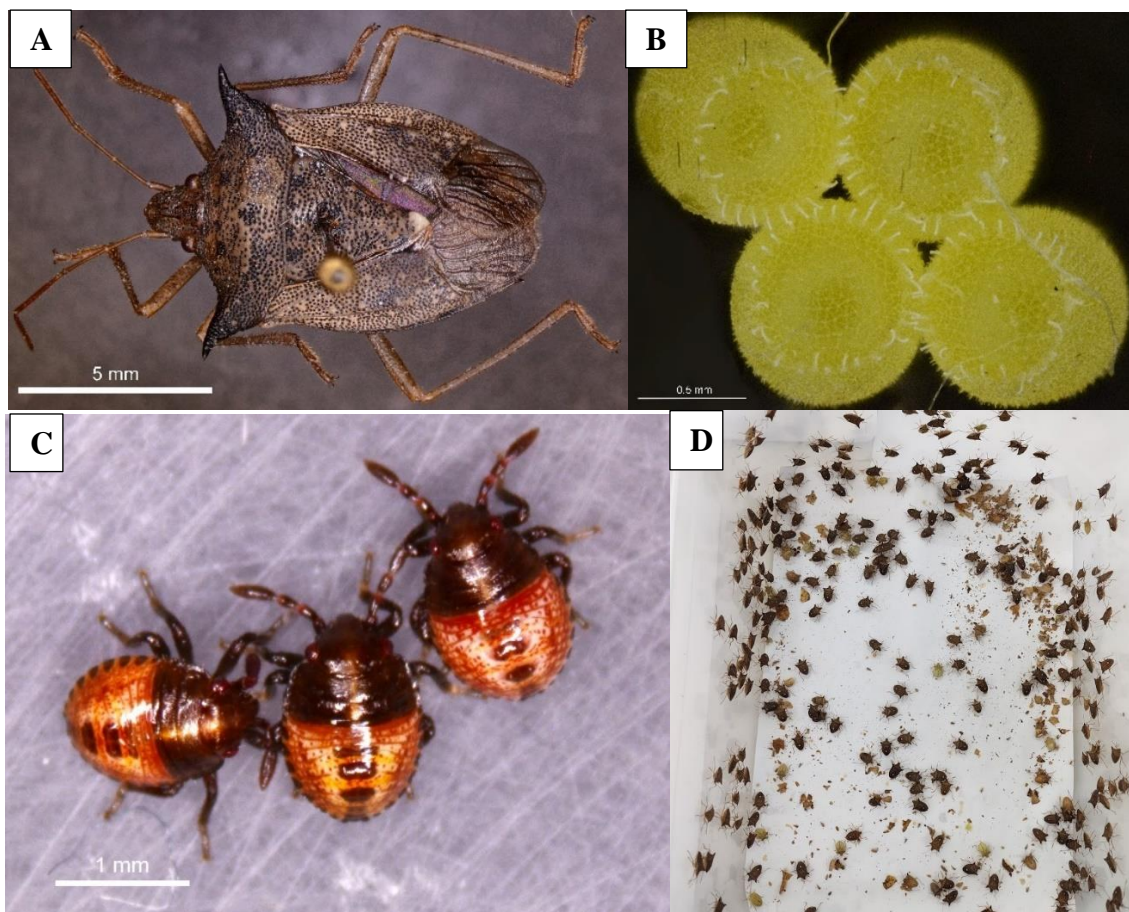


Imagem: CARVALHO, A. P.

Imagem 5. (A) Adulto de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) (B) ovos com 24 horas de idade de *E. heros*. (C) ninfas de 1º instar de *E. heros*. (D) detalhe da caixa com adultos de *E. heros* após coleta. UFGD, Dourados-MS, 2021.

CAPÍTULO II – Parasitismo de *Ooencyrtus submetallicus* com diferentes densidades de fêmeas em ovos de *Bombyx mori*

RESUMO

A avaliação do número ideal de fêmeas de *Ooencyrtus submetallicus* (Howard, 1897) (Hymenoptera: Encyrtidae) ofertadas para parasitar ovos de *Bombyx mori* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Bombycidae) é uma importante etapa para definir os melhores resultados de parasitismo neste hospedeiro. Portanto, avaliamos o parasitismo e desenvolvimento de *O. submetallicus*, em diferentes densidades, sobre ovos de *B. mori*. Fêmeas de *O. submetallicus* com 120 horas de idade foram individualizadas em tubos de Duran (0,5 mm de diâmetro x 4,0 cm de comprimento) vedados com algodão. Foram utilizadas 7 densidades de fêmeas parasitoide, sendo elas: 1, 2, 3, 5, 10, 15 ou 20 fêmeas para cada 10 ovos do hospedeiro com 24 horas de idade em 10 repetições. O parasitismo foi permitido por 24 horas e após esse período as fêmeas foram retiradas e os ovos parasitados foram mantidos em BOD climatizada à $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de UR e fotofase de 14 horas até a emergência dos descendentes. A porcentagem de parasitismo foi afetada pelas diferentes densidades de fêmeas de *O. submetallicus* parasitando ovos de *B. mori*, no entanto, superiores a 66% para todas as densidades avaliadas. A maiores porcentagens de emergência de fêmeas apresentou resultados de 66.56 ± 3.14 e $59.00 \pm 5.26\%$ para as densidades 10 e 15 fêmeas, respectivamente. A duração do ciclo de vida dos parasitoides emergidos foi, em média, de 17 dias. O número de indivíduos por ovo encontrado variou de 1.40 ± 0.24 (densidade 1) à $2,86 \pm 0,28$ (densidade 15). A longevidade dos descendentes foram de 10.10 ± 1.22 ; 8.40 ± 1.54 ; 9.00 ± 1.14 ; 16.80 ± 2.72 ; 17.50 ± 1.29 e 20.70 ± 2.06 dias, para as densidades 1, 2, 3, 5, 10 e 15, respectivamente. De maneira geral, as densidades de 10 e 15 fêmeas de *O. submetallicus* foram as mais adequadas para criação desse parasitoide em ovos de *B. mori*, podendo ser utilizado como hospedeiro para criação em larga escala do parasitoide.

Palavras-chave: Criação massal, parasitoide de ovos, hospedeiro alternativo, proporção ideal parasitoide:hospedeiro.

CHAPTER II – Parasitism of *Ooencyrtus submetallicus* with different densities of females in *Bombyx mori* eggs

ABSTRACT

The evaluation of the ideal number of females of *Ooencyrtus submetallicus* (Howard, 1897) (Hymenoptera: Encyrtidae) parasitizing *Bombyx mori* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Bombycidae) eggs is an important step to define the ideal number of females with the best results when parasitizing eggs of this lepidopteran, with potential to be used in large-scale creations of the parasitoid. The objective of this work was to evaluate the reproduction of *O. submetallicus* in eggs of the alternative host *B. mori*, under different densities of females of this parasitoid. The experiments were carried out at the Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) of the Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA/UFGD). 120 hours old females of *O. submetallicus* were individualized in Duran tubes (0.5 mm in diameter and 4.0 cm in length) sealed with cotton. Seven densities of females (1, 2, 3, 5, 10, 15 and 20 females) were used for 10 host eggs at 24 hours of age and 10 replicates for each treatment. Parasitism was allowed for 24 hours. After this period, the females were removed and the parasitized eggs were kept in an air-conditioned BOD at $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 10\%$ RH and a 14-hour photophase until the emergence of the offspring. The percentage of parasitism was affected by the different densities of females of *O. submetallicus* parasitizing eggs of *B. mori*, being higher than 66% for all densities evaluated. The emergence of females showed results of $66.56 \pm 3.14\%$ and $59.00 \pm 5.26\%$ for densities 10 and 15 respectively. The life cycle duration of the emerged parasitoids was, on average, 17 days. The number of individuals per egg found ranged from 1.40 ± 0.24 (density 1) to 2.86 ± 0.28 (density 15). The longevity of descendants was 10.10 ± 1.22 ; 8.40 ± 1.54 ; 9.00 ± 1.14 ; 16.80 ± 2.72 ; 17.50 ± 1.29 and 20.70 ± 2.06 days, for densities 1, 2, 3, 5, 10 and 15, respectively. In general, the densities of 10 and 15 females of *O. submetallicus* were the most suitable for rearing this parasitoid in *B. mori* eggs, which could be used as a host for large-scale rearing of the parasitoid.

Keywords: Mass rearing, egg parasitoid, alternative host, ideal parasitoid:host ratio.

INTRODUÇÃO

O uso do controle biológico vem crescendo a cada ano. Assume papel importante na agricultura podendo ser um aliado aos agroquímicos utilizados, usando somente nos momentos em que o uso do controle biológico não for suficiente para o controle das pragas (PARRA e COELHO JR 2019). Além dos microrganismos e predadores utilizados expressivamente no controle biológico aplicado, os parasitoides são importantes agentes utilizados para o manejo eficaz de diversas pragas em campo.

Os parasitoides ocorrem naturalmente, porém muitas vezes, devido a alta população da praga, especialmente em lavouras de ciclo curto, torna-se necessário realizar o controle biológico, podendo ser o inundativo, onde é realizada a criação massal do parasitoide em laboratório e, posteriormente, é feita a liberação desses indivíduos em campo, já em lavouras de ciclo longo ou perenes pode-se realizar o controle biológico inoculativo, que consiste na liberação de uma menor quantidade de parasitoides, visando o estabelecimento do inimigo natural na área por sucessivas gerações (VAN LENTEREN et al., 2018).

A utilização de parasitoides de ovos tem grande importância por manterem a população dos insetos alvos sob controle e busca-se também a permanência e preservação dos insetos benéficos nas lavouras. A utilização dos parasitoides não busca a erradicação da praga na lavoura e sim o controle de sua população para que permaneça abaixo do nível de dano econômico (PACHECO e CORRÊA-FERREIRA, 2000). Para um bom programa de controle biológico com parasitoides de ovos, é necessário a criação e manutenção de hospedeiros em laboratório para a produção contínua de ovos e permitir a criação massal do parasitoide (CORRÊA-FERREIRA, 1993).

A utilização de hospedeiros alternativos para a multiplicação dos parasitoides busca aumentar a produção e reduzir custos. Porém, vale ressaltar que se deve sempre ser avaliado com cuidado o uso de hospedeiros alternativos, devido a possibilidade de os parasitoides não se desenvolverem adequadamente (PRATISSOLI et al., 2004). A escolha de hospedeiros alternativos deve ser feita com base na disponibilidade, facilidade de criação e aceitação do hospedeiro pelo parasitoide (PARRA et al., 2002; PRATISSOLI et al., 2004). E com a densidade correta para se evitar a ocorrência de superparasitismo, quando muitos indivíduos se desenvolvem no mesmo hospedeiro, que não é vantajosa quando se busca a criação em larga escala do parasitoide (KASER e ODE 2016; TUNCA et al., 2017, SANOMIA et al., 2021).

O parasitoide *Ooencyrtus submetallicus* (Howard, 1897) (Hymenoptera: Encyrtidae) é relatado parasitando ovos de diversos hospedeiros, como os percevejos pentatomídeos fitófagos (SOUSA et al., 2019), *Euschistos heros* (CHAVES et al., 2021; Sanomia et al., 2021) *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) (CORRÊA-FERREIRA e MOSCARDI, 1995); *Edessa mediatubunda* (Fabricius, 1794) (GOLIN et al. 2011) e *Nezara viridula* (Linnaeus 1758) (Hemiptera: Pentatomidae) (BUSCHMAN e WHITCOMB 1980; FACA et al., 2021), e lepidópteros (NOYES, 1985), como *Erinnyis ello* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Sphingidae) (SILVA et al. 2015). No entanto, o sucesso da utilização desses agentes depende de inúmeros fatores, entre esses, destaca-se o conhecimento do número ideal de fêmeas ofertadas para parasitar seus hospedeiros, tanto os naturais quanto os alternativos.

Por esse motivo, o objetivo foi avaliar a capacidade de parasitismo e o desenvolvimento de *O. submetallicus* em ovos do hospedeiro alternativo *Bombyx mori* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Bombycidae), sob diferentes densidades de parasitoides, podendo assim ser utilizado como hospedeiro alternativo.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL), pertencente a Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

ETAPA I - Criação de insetos utilizados nos experimentos

Parasitoide *Ooencyrtus submetallicus*

Adultos de *O. submetallicus* (Anexo 2) foram mantidos em tubos de vidro (1,0 cm x 10,0 cm) vedados com algodão, contendo em seu interior, uma gotícula de mel para sua alimentação do parasitoide. Dez ovos de *N. viridula*, fixados com goma arábica a 20% por cartela de cartolina azul celeste (1 x 0,5 cm), foram oferecidos aos parasitoides para sua reprodução (FACA et al., 2021).

A criação foi conduzida em câmara climatizada tipo BOD (modelo EL 222, ELETROLab®, São Paulo, SP, Brasil). O parasitoide foi coletado em ovos de *Edessa mediatubunda* em plantas de tomate *Solanum lycopersicum* (Linnaeus, 1753) (Solanales:

Solanaceae), na região de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. A identificação foi realizada pelo especialista Dr. Valmir Antonio Costa do Instituto Biológico de São Paulo.

Bicho-da-seda *Bombyx mori*

Pupas de *B. mori* foram adquiridas de sericultores na região de Glória de Dourados, MS. As pupas foram mantidas em bandejas no LECOBIO até a emergência dos adultos, com temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e umidade relativa do ar de $60 \pm 10\%$ UR e fotofase de 14h. A retirada dos ovos era feita diariamente e os ovos que sobravam eram armazenados em nitrogênio líquido.

ETAPA II – Desenvolvimento experimental e análises

Fêmeas de *O. submetallicus* com 120 horas de idade foram individualizadas em tubos de Duran (0,5 mm de diâmetro e 4,0 mm de comprimento) vedados com algodão. Foram utilizadas 7 densidades de fêmeas (1, 2, 3, 5, 10, 15 e 20 fêmeas) para 10 ovos do hospedeiro alternativo (*B. mori*) com 24 horas de idade em 10 repetições para cada tratamento (densidade de fêmeas). O parasitismo foi permitido por 24 horas e após esse período as fêmeas foram retiradas e os ovos parasitados foram mantidos em BOD climatizada à $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de UR e fotofase de 14 horas até a emergência dos descendentes (Anexo 3) (Anexo 4).

As características biológicas avaliadas foram: Porcentagem de parasitismo [(n° de ovos escuros/n° total de ovos) x 100] e de emergência [(n° de ovos com orifício/n° de parasitados) x 100]; duração ciclo de vida (ovo-adulto); número de indivíduos por ovo e longevidade de fêmeas. A equação que melhor se ajustou aos dados avaliados foi escolhida com base no coeficiente de determinação (R²) e de regressão pelo teste F (5% de probabilidade), utilizando o software estatístico SigmaPlot 30-Day Trial, sob o serial “775050001”.

RESULTADOS

A porcentagem de parasitismo foi afetada pelas diferentes densidades de fêmeas de *O. submetallicus* parasitando ovos de *B. mori*, sendo 67.00 ± 4.73 ; 66.00 ± 9.68 ; 66.00 ± 11.18 ; 98.00 ± 1.33 ; 99.00 ± 1.00 ; $100 \pm 0,00$ e $100 \pm 0,00$ % para as densidades 1, 2, 3, 5, 10, 15 e 20 fêmeas, respectivamente (Quadro 1) (Figura 1).

A emergência média de fêmeas de *O. submetallicus* obtidas a partir do parasitismo em ovos de *B. mori* foi de 18.44 ± 5.95 ; 7.61 ± 4.40 ; 5.00 ± 3.07 ; 17.22 ± 5.80 ; 66.56 ± 3.14 e $59.00 \pm 5.26\%$ para as densidades 1, 2, 3, 5, 10 e 15 respectivamente (Quadro 1) (Figura 2) e quando utilizadas 20 fêmeas não ocorreu nenhuma emergência. A duração média do ciclo de vida (ovo-adulto) para todas as densidades, duraram em torno de 17 dias (Quadro 3).

O número médio de *O. submetallicus* por ovo de *B. mori* foi de 1.40 ± 0.24 ; 2.17 ± 0.17 ; 2.33 ± 0.33 ; 1.82 ± 0.37 ; 2.97 ± 0.15 e $2,86 \pm 0,28$ para as densidades 1, 2, 3, 5, 10 e 15 fêmeas, respectivamente (Quadro 1) (Figura 3) e a longevidade dos adultos, alimentados uma única vez com mel, foram de 10.10 ± 1.22 ; 8.40 ± 1.54 ; 9.00 ± 1.14 ; 16.80 ± 2.72 ; 17.50 ± 1.29 e 20.70 ± 2.06 dias para as densidades 1, 2, 3, 5, 10 e 15 fêmeas, respectivamente (Quadro 1) (Figura 4).

DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo são importantes para a compreensão do comportamento biológico de *O. submetallicus* em função da densidade de fêmeas parasitando ovos do hospedeiro alternativo *B. mori* por um período de 24 horas em condições laboratoriais. As melhores densidades de fêmeas para parasitar ovos de *B. mori* foram 10:10 ou 15:10 (parasitoide: hospedeiro), já para a densidade de 20 fêmeas, mesmo com 100% de parasitismo, não ocorreu nenhuma emergência do parasitoide.

Conforme a densidade de fêmeas aumentou, o parasitismo aumentou até um determinado ponto, no entanto, não foi inferior a 66% em nenhum tratamento. Observando o parasitismo de *O. submetallicus* em ovos de *Euschistus heros* (Fabricius, 1798) (Hemiptera: Pentatomidae), a melhor densidade de parasitismo foi encontrada em 1:6 (parasitoide: hospedeiro) (SANOMIA et al., 2021). Em um estudo com parasitoide do gênero *Trissolcus* foi relatado que o parasitoide, ao atingir o limite de sua capacidade de parasitismo, deixa de parasitar os ovos do hospedeiro (LAUMANN et al., 2008).

O período de apenas 24 horas pode ser a causa do menor parasitismo para densidades mais baixas, dificultando a avaliação do potencial de parasitismo do parasitoide (POLANCZYK et al., 2011). Antes de efetivamente iniciar o parasitismo, a fêmea parasitoide necessita de um tempo de para explorar e analisar as características do hospedeiro para só depois realizar a oviposição (MOREIRA et al., 2009).

As porcentagens de emergência foram inferiores a 20% até a densidade de 5 fêmeas, sendo de 66% e 59% para 10 e 15 fêmeas respectivamente, sendo possível considerar que nesse caso, para se usar ovos de *B. mori* como hospedeiro alternativo é necessária uma densidade maior de fêmeas, para que o parasitismo e emergência dos ovos sejam satisfatórios, onde a porcentagem ideal de emergência está acima de 70% (SANOMIA et al., 2021).

Para bons resultados de parasitismo e emergência, é necessário que o parasitoide supere as defesas do hospedeiro. Em estudos realizados com o parasitoide *Ooencyrtus telenomicida* (Vassiliev, 1904) (Hymenoptera: Encyrtidae), foi observado que o parasitoide injeta substâncias para suprimir as respostas imunes do hospedeiro e com isso favorecer o desenvolvimento dos seus descendentes em ovos de *N. viridula* (CUSUMANO et al., 2018).

A duração do ciclo de vida do parasitoide é em torno de 60% do ciclo de vida do percevejo *E. heros*, é 18 dias, o que representa cerca de 60% do ciclo de vida do percevejo (em média 30 dias) (PIÑEYRO FERREIRA, 2016). Essa característica é um dado importante, sendo possível estimar o tempo de sobrevivência do parasitoide no campo e fazer os planejamentos para liberações e estimar o número de liberações necessárias a se fazer (SORESEN et al., 2012). A duração do ciclo de vida para *O. submetallicus* pode chegar a até 19 dias (SANOMIA, 2021) e neste trabalho foi observado ciclo de vida de 17 dias para todas as densidades de fêmeas, apontando assim que *B. mori* é um hospedeiro indicado para a reprodução de *O. submetallicus* em laboratório.

A longevidade dos parasitoides variaram positivamente conforme o aumento da densidade de fêmeas. Essa variação pode estar relacionada ao hospedeiro utilizado e relacionado também com a densidade de fêmeas utilizadas, tornando assim o hospedeiro mais favorável ao parasitismo. Quando *O. submetallicus* é criado no seu hospedeiro natural, ovos de *E. heros*, a longevidade de fêmeas não sofreu alteração, ficando em torno dos 22 dias, sendo então adequado à multiplicação do parasitoide (SANOMIA et al., 2021).

O desenvolvimento de vários indivíduos por ovo está relacionado à poliembrionia e pode ocorrer nas seguintes famílias de parasitoides: Braconidae, Dryinidae, Encyrtidae, Platygastriidae. Após a oviposição, os ovos sofrem divisões dando origem a vários indivíduos (STRAND, 2009). O número de indivíduos por ovo encontrado variou de 1,40 para densidade de 1 fêmea até 2,97 e 2,86 para 10 e 15 fêmeas, respectivamente. O superparasitismo ocorre quando mais de um ovo é colocado no

hospedeiro, normalmente ocorre quando a densidade de hospedeiros é baixa (ROSENHEIM, 1993), gerando competições entre as larvas parasitoides por recursos (PEREIRA et al. 2017). Para criações massais isso não é benéfico, pois pode resultar em competições e comprometimento dos parasitoides (KASER e ODE 2016). *Ooencyrtus kuvanae* (Howard, 1910) (Hymenoptera: Encyrtidae) exposto a diferentes densidades de ovos de *Lymantria dispar* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Erebididae) apresentou efeitos deletérios como diminuição da expectativa de vida e redução do tamanho corporal (TUNCA et al., 2017). O número alto de indivíduos por ovo pode ser vantajoso desde que isso não afete negativamente a qualidade desse parasitoide, por isso estudos avaliando a densidade de parasitismo serão necessários para avaliar a densidade e hospedeiro a ser utilizado de acordo com cada objetivo a ser alcançado.

O uso de *B. mori* como hospedeiro alternativo é possível, porém este estudo é um ponto de partida para novas pesquisas que possam melhor analisar a viabilidade desse hospedeiro para multiplicação do parasitoide em grande escala.

CONCLUSÃO

As densidades 10:10 e 15:10 (parasitoide:hospedeiro) foram as mais adequadas para criação de *O. submetallicus* em ovos de *B. mori*, podendo ser utilizado como hospedeiro para criação em larga escala do parasitoide.

AGRADECIMENTOS

À CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela concessão de bolsa de estudo. Ao CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Processos 304055/2019-0; 437490/2018-1), pelo apoio financeiro para realização da pesquisa. A FUNDECT - Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul, pelo apoio financeiro para realização da pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CORRÊA-FERREIRA, B. S. **Utilização do parasitoide de ovos *Trissolcus basalis* (Wollaston) no controle de percevejos da soja.** Londrina: Embrapa Soja, 1993, 30 p.
- CUSUMANO, A.; DUVIC, B.; JOUAN, V.; RAVALLEC, M.; LEGEAI, F.; PERI, E.; COLAZZA, S.; VOLKOFF, A. N. First extensive characterization of the venom gland from an egg parasitoid: structure, transcriptome and functional role. **Journal of Insect Physiology**, v. 107, p. 68-80, 2018.
- FACA, E. C.; PEREIRA, F. F.; FERNANDES, W. C.; SILVA, I. F.; COSTA, V. A.; WENGRAT, A. P. G. S. Reproduction of *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) and *Trissolcus sp. aff. urichi* (Hymenoptera: Scelionidae) in Eggs of *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) of Different Ages. **Journal of Agricultural Science**, v. 13, p. 96-106, 2021.
- HUANG, D. W.; NOYES, J. S. A revision of the Indo-Pacific species of *Ooencyrtus* (Hymenoptera: Encyrtidae), parasitoids of the immature stages of economically important insects species (mainly Hemiptera and Lepidoptera). **Bulletin of the Natural History Museum**, v. 63, p. 1-136, 1994.
- KASER, J. M.; ODE, P. J. Hidden risks and benefits of natural enemy-mediated indirect effects. **Current Opinion in Insect Science**, v. 14, p. 105-111, 2016.
- LAUMANN, R. A.; MORAES, M. C. B.; PAREJA, M.; BOTELHO, A. C.; MAIA, A. N. A.; LEONARDECZ, E.; BORGES, M. Comparative biology and functional response of *Trissolcus* spp. (Hymenoptera: Scelionidae) and implications for stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae) biological control. **Biological Control**, v. 44, p. 32-41, 2008.
- MOREIRA, M. D.; MARIA, S. C. F. dos; BESERRA, E. B.; TORRES, J. B.; ALMEIDA, R. P. Parasitismo e superparasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Sitotroga cerealella* (Oliver) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Neotropical Entomology**, v. 38, p. 237-242, 2009.
- NOYES, J. S. A review of the Neotropical species of *Ooencyrtus* Ashmead, 1900 (Hymenoptera: Encyrtidae). **Journal of Natural History**, London, v. 19, p. 533-554, 1985.
- PACHECO, D. J.; CORRÊA-FERREIRA, B. S. Parasitismo de *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae) em populações de percevejos pragas da soja. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, p. 295-302, 2000.
- PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. Controle biológico: uma visão inter e multidisciplinar. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J. M. S. **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores.** São Paulo: Manole, p. 125-142, 2002.
- PARRA, J. R. P.; COELHO JUNIOR, A. Applied Biological Control in Brazil: From Laboratory Assays to Field Application. **Journal of Insect Science**, v. 19, p. 1-6, 2019.

PEREIRA, K. S.; GUEDES, N. M.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C.; GUEDES, R. N. C. Superparasitism, immune response and optimum progeny yield in the gregarious parasitoid *Palmistichus elaeisis*. **Pest Management Science**, v. 73, p. 1101-1109, 2017.

PIÑEYRO FERREIRA, N. G. *Ooencyrtus submetallicus* (HYMENOPTERA: ENCYRTIDAE): Um potencial parasitoide de *Euschistus heros* e *Chinavia pengue* (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE). Dissertação Mestrado, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2016, 76 p.

POLANCZYK, R. A.; BARBOSA, W. F.; CELESTINO, F. N.; PRATISSOLI, D.; HOLTZ, A. M.; MILANEZ, A. M.; COCHETO, J. G.; SILVA, A. F. Influência da densidade de ovos de *Diaphania hyalinata* (L.) (Lepidoptera: Crambidae) na capacidade de parasitismo de *Trichogramma exiguum* Pinto & Platner e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Neotropical Entomology**, v. 40, p. 238-243, 2011.

PRATISSOLI, D.; OLIVEIRA, H. N.; GONCALVES, J. R.; ZANUNCIO, J. C.; HOLTZ, A. M. Changes in Biological Characteristics of *Trichogramma pretiosum* (Hym.: Trichogrammatidae) Reared on Eggs of *Anagasta kuehniella* (Lep.: Pyralidae) for 23 Generations. **Biocontrol Science and Technology**, v. 14, p. 313-319, 2004.

ROSENHEIM, J. A. Single-sex broods and the evolution of nonsiblicidal wasps. **The American Naturalist**, v. 141, p. 90-104, 1993.

SANOMIA, W. Y.; PEREIRA, F. F.; SILVA, I. F.; CARDOSO, C. R. G.; LUCCHETTA, J. T. Reproduction of *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) in egg densities of *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae). **The Canadian Entomologist**, v. 154, p. 1-10, 2021.

SILVA, A. S.; PIÑEYRO FERREIRA, N. G.; PEREIRA, F. F.; COSTA, V. A. Biologia do parasitoide *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) em ovos de *Erinnyis ello* (Lepidoptera: Sphingidae), praga da cultura de mandioca. In: **16º Congresso Brasileiro de Mandioca e 1º Congresso Latino-Americano e Caribenho de Mandioca**, Foz do Iguaçu. Integração: Segurança Alimentar e Geração de Renda. 2015.

SORENSEN, J. G.; ADDISON, M. F.; TERBLANCHE, J. S. Mass-rearing of insects for pest management: Challenges, synergies and advances from evolutionary physiology. **Crop Protection**, v. 38, p. 87-94, 2012.

SOUSA, K. K. A.; SILVA, N. N. P.; QUERINO, R. B.; SILVA, P. H. S.; GRAZIA, J. Diversity, seasonality, and egg parasitism of hemipteran (Coreidae and Pentatomidae) from a cowpea crop in northeastern Brazil. **Florida Entomologist**, v. 102, p. 29-35, 2019.

STRAND, M. R. **Polyembryony**. In: RESH, V. H.; CARDÉ, R. T. Encyclopedia of Insects, p. 821-825. 2009.

TUNCA, H.; COLOMBEL, E.; VENARD, M.; TABONE, E. Incidence of superparasitism in the egg parasitoid, *Ooencyrtus kuvanae* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae). **Biocontrol Science and Technology**, v. 27, p. 796-808, 2017.

VAN LENTEREN, J. C.; BOLCKMANS, K.; KOHL, J.; RAVENSBERG, W. J.;
URBANEJA, A. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of
new opportunities. **Biological Control**, v. 63, p.39-59, 2018.

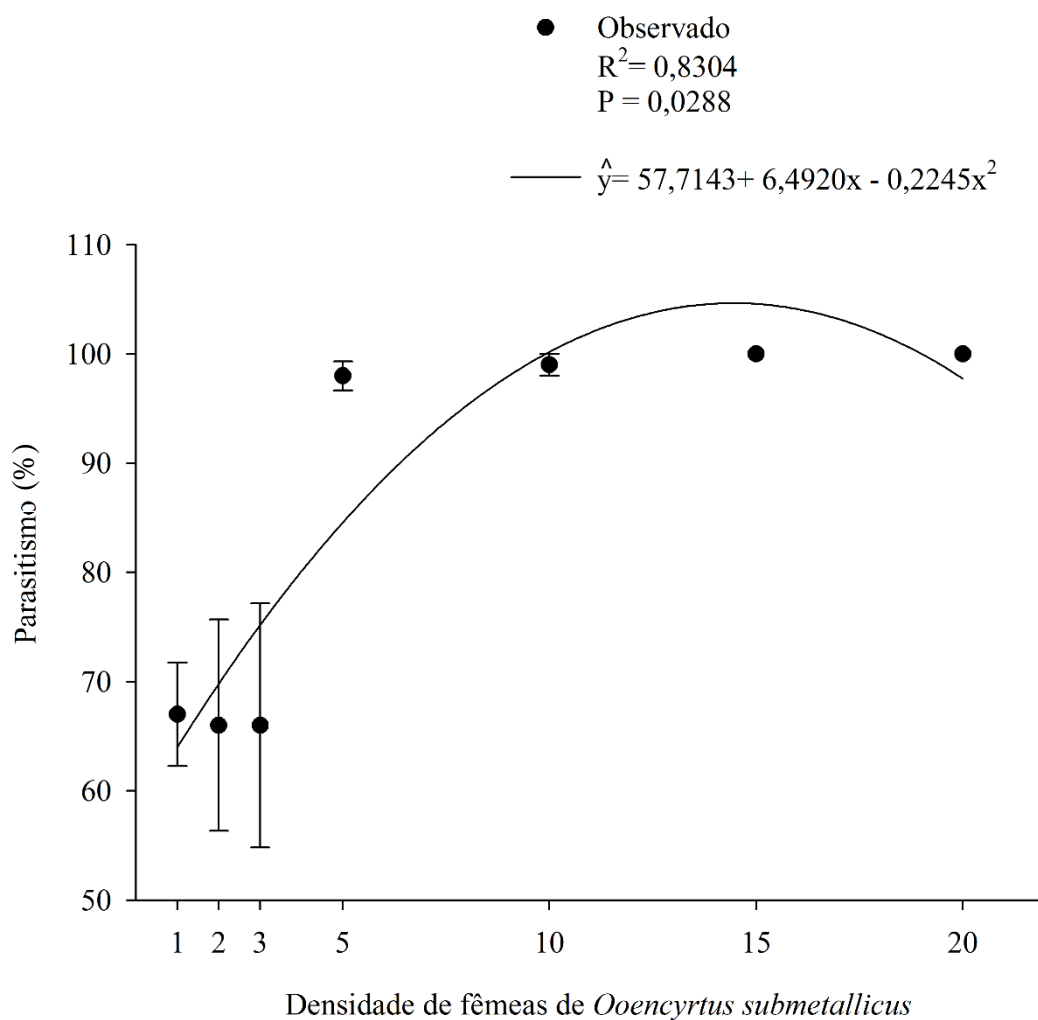


Figura 1. Porcentagem de parasitismo de fêmeas de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae), de diferentes densidades, em ovos de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) (n=10). Dourados, MS, 2021.

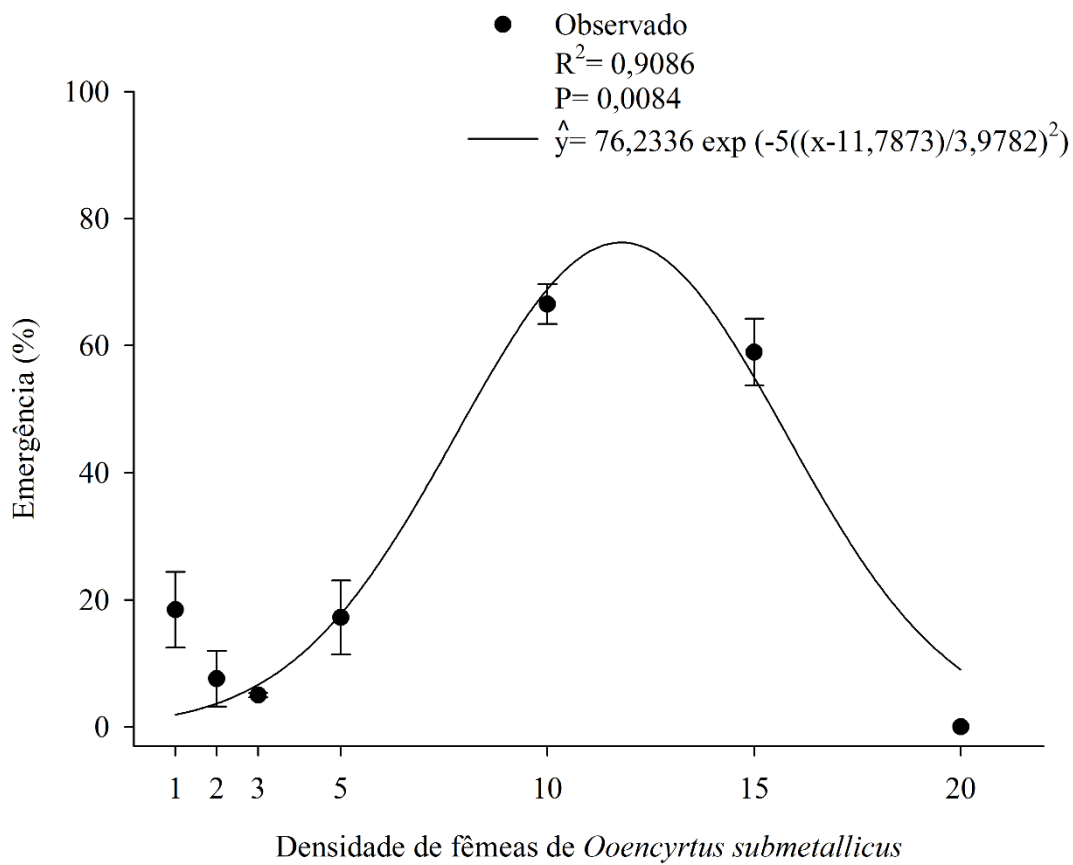


Figura 2. Porcentagem de emergência de fêmeas de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae), de diferentes densidades, em ovos de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) (n=10). Dourados, MS, 2021.

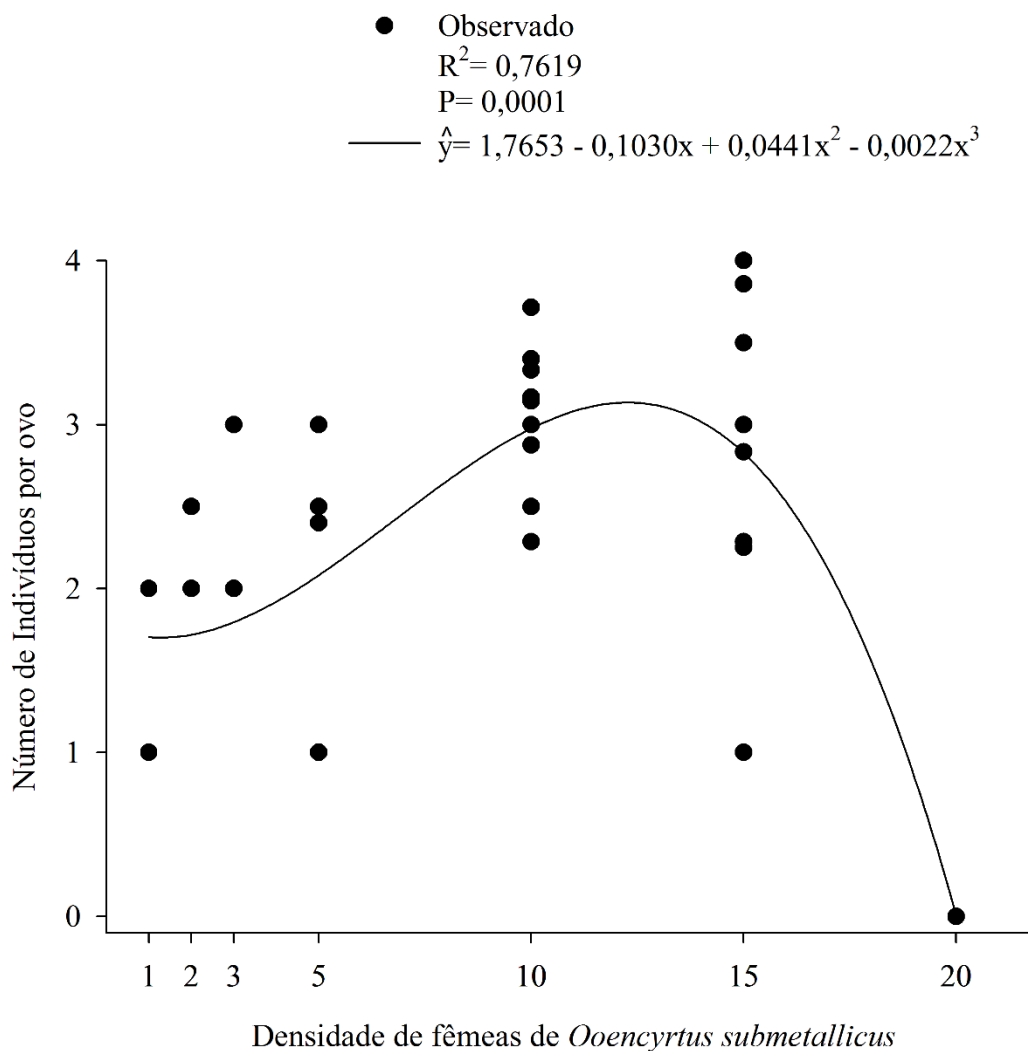


Figura 3. Número médio de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) gerados a partir do parasitismo de fêmeas, de diferentes densidades, em ovos de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) (n=10). Dourados, MS, 2021.

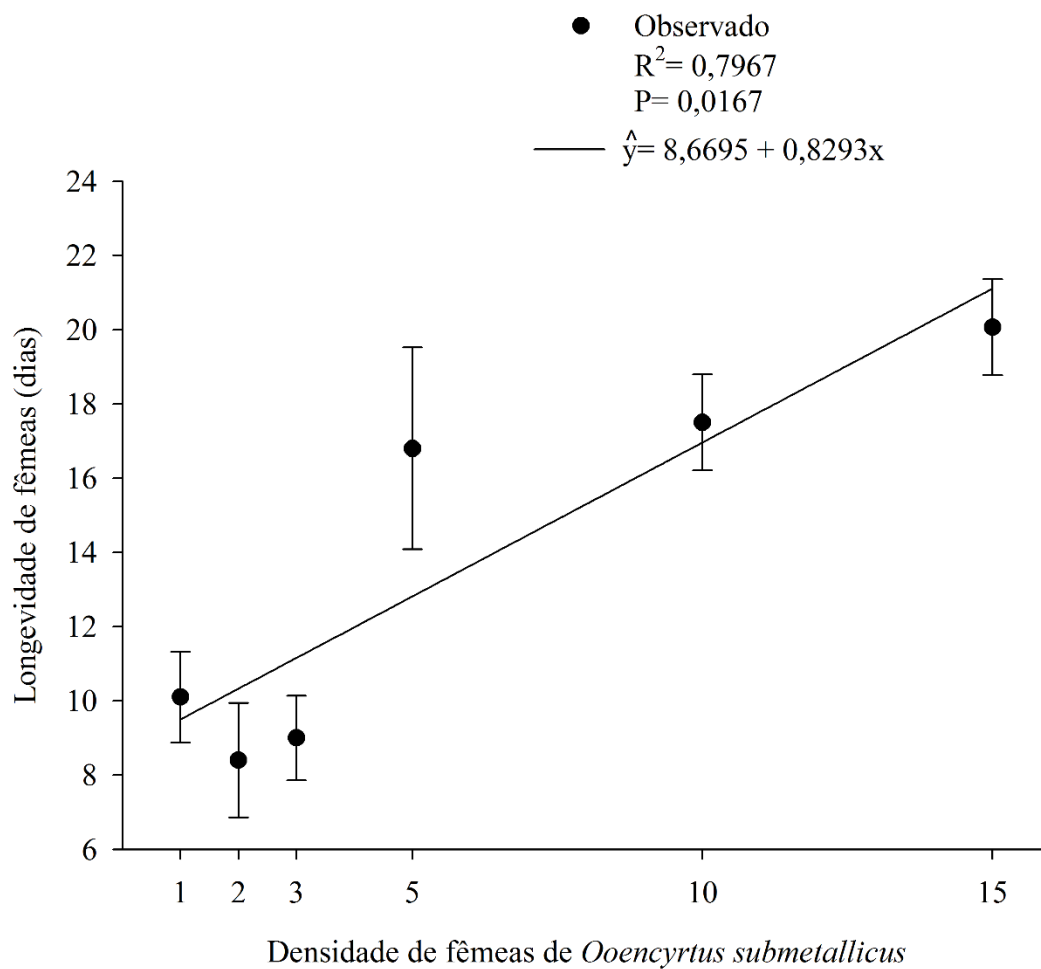


Figura 4. Longevidade média de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) em função de diferentes densidades de fêmeas de *O. submetallicus* obtidas do parasitismo em ovos de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) (n=10). Dourados, MS, 2021.

Quadro 1: Ciclo de vida total (ovo-adulto) (média±EP) de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae), com diferentes densidades, sobre ovos de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) (n=10). Dourados, MS, 2021.

Característica biológica	Densidade de fêmeas de <i>Ooencyrtus submetallicus</i> ¹							Média Geral	
	1	2	3	5	10	15	20		
Duração total do ciclo ²	17,00 ± 0,00	17,23 ± 0,12	17,08 ± 0,08	18,00 ± 0,00	16,20 ± 0,11	17,10 ± 0,06	---	17,10 ± 0,06	n.s

^{n.s} Não significativo ($p > 0,05$), teste F. ¹nº ♀ de *Ooencyrtus submetallicus* parasitando 10 ovos de *B. mori*, ²tempo entre o parasitismo dos ovos e emergência dos adultos.

CAPÍTULO III Parasitismo e desenvolvimento de *Ooencyrtus submetallicus* em ovos de *Nezara viridula* criopreservados por diferentes períodos

RESUMO

A preservação de ovos, em ultrafreezer, para a reprodução de *Ooencyrtus submetallicus* (Howard, 1897) (Hymenoptera: Encyrtidae) possuem poucos registros na literatura. Essa técnica pode ser uma opção viável para o armazenamento dos ovos do hospedeiro que serão utilizados na produção do parasitoide conforme a demanda de produção e liberação. Desse modo, foi avaliada a reprodução de *O. submetallicus* em ovos de *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758) (Hemiptera: Pentatomidae) armazenados por 0, 15, 30, 60 e 90 dias em ultrafreezer (-80°C). Os experimentos foram realizados no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA/UFGD). Ovos de *N. viridula* com 24 horas de idade foram armazenados a -80°C em ultrafreezer. Após cada período de armazenamento os ovos eram retirados e oferecidos para uma fêmea de *O. submetallicus*, na densidade de 1:10 (parasitoide:hospedeiro), por um período de 24 horas. O experimento foi mantido em câmara climatizada (BOD) a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de UR e fotofase de 14 horas até a emergência dos descendentes. A porcentagem de parasitismo não foi afetada negativamente pelos períodos de armazenamento de ovos de *N. viridula* oferecidos às fêmeas de *O. submetallicus*. Já a emergência do parasitoide, duração do ciclo de vida, número de indivíduos por ovo e longevidade dos parasitoides não tiveram diferença significativa. De maneira geral, fêmeas de *O. submetallicus* conseguem parasitar e se desenvolver em ovos de *N. viridula* armazenados em ultrafreezer de 0 a 90 dias, porém a emergência dos parasitoide foi reduzida em 50% após o armazenamento.

Palavras-chave: Técnica de multiplicação, Hospedeiro, Endoparasitoide

CHAPTER III Parasitism of *Ooencyrtus submetallicus* reared on *Nezara viridula* cryopreserved for different periods

ABSTRACT

The preservation of *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758) (Hemiptera: Pentatomidae) eggs for the reproduction of *Ooencyrtus submetallicus* (Howard, 1897) (Hymenoptera: Encyrtidae) in an ultrafreezer has few records in the literature. This technique may be a viable option for the storage of host eggs that will be used in the production of the parasitoid according to production and release demand. The objective of this work was to evaluate the reproduction of *O. submetallicus* in *N. viridula* eggs stored for 0, 15, 30, 60 and 90 days in an ultrafreezer (-80°C). The experiments were carried out at the Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) of the Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA/UFGD). 24-hour-old *N. viridula* eggs were stored at -80°C in an ultra-freezer. After each storage period, the eggs were removed and offered to a female of *O. submetallicus*, at a density of 1:10 (parasitoid:host), for a period of 24 hours. The experiment was kept in a climatized chamber (BOD) at $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ RH and a 14-hour photophase until the emergence of the offspring. The percentage of parasitism was not negatively affected by the storage periods of *N. viridula* eggs offered to females of *O. submetallicus*. On the other hand, the emergence of the parasitoid, duration of the life cycle, number of individuals per egg and longevity of the parasitoids had no significant difference. Females of *O. submetallicus* can parasitize and develop in *N. viridula* eggs stored in an ultrafreezer for 0 to 90 days, but with emergence reduced by 50% after storage.

Keywords: Multiplication technique, Host, Endoparasitoid

INTRODUÇÃO

O controle biológico de pragas vem se destacando cada vez mais (FONTES e VALADARES-INGLIS, 2020). Considerados pragas de grande importância agrícola, os percevejos pentatomídeos são um grande problema fitossanitário para muitas culturas (PANNIZI et al., 2012; CORRÊA-FERREIRA e SOSA-GOMES, 2017).

Em razão da crescente importância dos parasitoides de ovos no manejo de percevejos pragas, se faz necessário a produção contínua do hospedeiro e desenvolvimento de métodos para armazenamento de ovos para utilização em outros momentos, conforme necessidade (CORRÊA-FERREIRA, 2002). Desse modo o aprimoramento das técnicas de criação do hospedeiro e a estocagem dos ovos são de fundamental importância para a produção e liberação dos parasitoides (CORRÊA-FERREIRA, 1993; CORRÊA-FERREIRA, 2002; SILVA et al., 2019).

Técnicas de armazenamento de ovos de pentatomídeos em baixas temperatura foram estudadas e os resultados demonstram a viabilidade desse processo para conservação dos ovos e utilização para a produção dos parasitoides. Além de ser um fator extremamente importante para o melhor aproveitamento das colônias dos insetos e produção dos parasitoides (CORRÊA-FERREIRA e MOSCARDI, 1993; ALBUQUERQUE et al., 2000; FAVETTI et al., 2014).

Dessa forma a utilização de meios para conservação dos ovos a baixas temperaturas permitem a utilização dos ovos por períodos prolongados sem que o parasitoide perca a eficiência de parasitismo e emergência nesses ovos (CORRÊA-FERREIRA e MOSCARDI, 1993; MAHMOUD e LIM, 2007), favorecendo a liberação dos parasitoides no campo no mesmo período de ocorrência da praga (COLINET e BOIVIN, 2011).

A conservação de ovos em baixas temperaturas podem ser feitas em refrigerador (RODRIGUES e SAMPAIO, 2011), freezer ou nitrogênio líquido (GRECO e STILINOVIC, 1998; KRECHEMER, 2010). As temperaturas utilizadas no armazenamento em refrigerador ficam em torno de 0 a 15°C (LEOPOLD et al., 1998), porém é um método que só é viável para armazenamento por curtos períodos (AYVAZ et al., 2008). No armazenamento em freezer, as temperaturas variam de 0°C a -140°C, onde a principal vantagem está no fato dos ovos poderem ser estocados por maiores períodos, em torno de 1 ano (PEVERIERI et al., 2015). Entretanto, caso as temperaturas negativas não sejam muito baixas, ocorrerá o congelamento lento que pode afetar as

estruturas internas do ovo, provocadas pela formação de cristais de gelo, causando perda da qualidade do material armazenado (GRECO e STILINOVIC, 1998; CASTRO et al., 2011).

A criopreservação, consiste no uso do nitrogênio líquido para realizar um congelamento extremamente rápido, processo também chamado de vitrificação, que consiste em retirar um material da temperatura ambiente e colocá-lo em contato com o nitrogênio líquido, que está a uma temperatura de -196°C (CASTRO et al., 2011). Esse processo de congelamento rápido evita ou diminui as chances de os materiais sofrerem danos em suas células por conta da formação de cristais de gelo, que é comum no congelamento lento (MILWARD-DE-AZEVEDO et al., 2004).

A criopreservação tem sido usada com sucesso para o armazenamento de ovos de diferentes espécies de pentatomídeos (CÔRREA-FERREIRA e OLIVEIRA, 1998; FAVETTI et al., 2014) e também para outras espécies, como *Bombyx mori* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Bombycidae) (BANNO et al., 2013), *Musca domestica* (Linnaeus 1758) (Diptera: Muscidae) (WANG et al., 2000) e *Anastrepha ludens* (Loew, 1873) (Diptera: Tephritidae) (LEOPOLD et al., 2010).

A preservação de ovos de *Nezara viridula* (Linnaeus 1758) (Hemiptera: Pentatomidae) para a reprodução de *Ooencyrtus submetallicus* (Howard, 1897) (Hymenoptera: Encyrtidae) em ultrafreezer possuem poucos registros na literatura, por esse motivo, pode ser uma opção viável para a produção de *O. submetallicus* com foco na produção em grande escala para uso em programas de controle biológico. Visto que é um sistema que pode ser vantajoso em relação ao nitrogênio líquido, pelo fato de não precisar fazer a recarga do nitrogênio. Portanto, neste trabalho buscou-se saber se ovos de *N. viridula* podem ser armazenados em ultrafreezer (-80°C) por até 90 dias sem que as características dos parasitoides sejam comprometidas. Nosso objetivo foi avaliar a reprodução de *O. submetallicus* em ovos de *N. viridula* armazenados por 0, 15, 30, 60 e 90 dias em ultrafreezer a -80°C .

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL), pertencente a Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

ETAPA I - Criação de insetos utilizados nos experimentos

Parasitoide *Ooencyrtus submetallicus*

Adultos de *O. submetallicus* (Anexo 2) foram mantidos em tubos de vidro (1,0 cm x 10,0 cm) fechados com algodão, contendo uma gotícula de mel para a alimentação do parasitoide. Dez ovos do percevejo *Chinavia pengue* (Rolston, 1983) (Hemiptera, Pentatomidae), fixados com goma arábica a 20% por cartela de cartolina azul celeste (1 x 0,5 cm), foram oferecidos aos parasitoides para sua reprodução (FACA et al., 2021).

A criação foi conduzida em câmara climatizada tipo BOD (modelo EL 222, ELETROLab[®], São Paulo, SP, Brasil) com temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 14 horas. O parasitoide foi coletado pelo Dr. Antonio de Souza Silva, em ovos de *Edessa meditabunda* (Fabricius 1974) (Hemiptera: Pentatomidae) em plantas de tomate *Solanum lycopersicum* (Linnaeus, 1753) (Solanales: Solanaceae), na região de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. A identificação foi realizada pelo especialista Dr. Valmir Antonio Costa do Instituto Biológico de São Paulo.

Percevejo *Nezara viridula*

Os percevejos foram coletados na fazenda experimental da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). A espécie foi identificada pela Dra. Jocélia Grazia, taxonomista de percevejos pentatomídeos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS.

Os adultos e ninfas de *N. viridula* foram criados em potes plásticos de 5 litros em laboratório e alimentados com vagens frescas de feijão *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae), sementes de *Ligustrum* sp. (Oleaceae), grãos crus de *Arachis hypogaea* L. (Fabaceae) e grãos secos de *Glycine max* (Fabaceae) (FACA et al., 2021). As posturas eram realizadas principalmente em papel filtro dobrado tipo leque. A criação foi conduzida e estabelecida em sala climatizada com temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 14h.

ETAPA II - Congelamento de ovos de *Nezara viridula*

Ovos de *N. viridula* com 24 horas de idade, foram coletados e transferidos para tubos criogênicos (Rosca Externa 2 mL, Corning[®], Ribeirão Preto, SP, Brasil) (CORRÊA-FERREIRA e OLIVEIRA, 1998). Onde esses tubos foram identificados e

acondicionados no interior do ultrafreezer (Panasonic / Sanyo VIP® Green Initiative Program) com capacidade de até 57.600 microtubos de 2 mL em caixas, armazenadas a uma temperatura de até -80°C, para posteriormente serem oferecidas às fêmeas do parasitoide *O. submetallicus*. Os ovos foram armazenados já nas quantidades que seriam utilizados em cada tratamento. Os ovos para o tratamento sem armazenamento não foram congelados (Anexo 5).

ETAPA III – Desenvolvimento experimental

Desempenho de *Ooencyrtus submetallicus* criados em ovos de *Nezara viridula* armazenados em ultrafreezer por 0, 15, 30, 60 e 90 dias

Ovos de *N. viridula* previamente congelados em ultrafreezer e sem congelar para o tratamento sem armazenamento, na densidade de 1:10, parasitoide: hospedeiro, foram colados em seções retangulares (0,5 cm x 1,00 cm) de papel tipo cartão, cor azul celeste com goma arábica a 20% e, posteriormente, inseridos em tubos de vidro (1,00 cm x 6,00 cm), juntamente com uma fêmea de *O. submetallicus* de 120 – 144 horas de idade previamente alimentada (FACA et al., 2021). Os ovos foram retirados do ultrafreezer uma hora antes de serem oferecidos às fêmeas, para que pudessem descongelar corretamente. O parasitismo foi permitido por 24 horas e após este período, as fêmeas de *O. submetallicus* foram retiradas e os ovos permaneceram em tubos de vidro, mantido em BOD (modelo EL 222, ELETROLab®, São Paulo, SP, Brasil) a 25 ± 2 °C, 70 ± 10 % de UR e fotofase de 14 horas até a emergência dos descendentes (Anexo 6).

O ensaio foi conduzido utilizando 5 tratamentos (períodos (dias) de armazenamento) em 15 repetições cada. As características biológicas avaliadas foram: Porcentagem de parasitismo [$(n^\circ \text{ de ovos escuros} / n^\circ \text{ total de ovos}) \times 100$] e de emergência [$(n^\circ \text{ de ovos com orifício} / n^\circ \text{ de parasitados}) \times 100$]; duração ciclo de vida (ovo-adulto); número médio de indivíduos por ovo e longevidade de fêmeas. A equação que melhor se ajustou aos dados avaliados foi escolhida com base no coeficiente de determinação (R^2) e de regressão pelo teste F (5% de probabilidade), e o fenômeno biológico estudado, utilizando o software estatístico SigmaPlot 30-Day Trial, sob o serial “775050001”.

RESULTADOS

A porcentagem de parasitismo de fêmeas de *O. submetallicus* em ovos de *N. viridula* armazenados por diferentes períodos não foi afetada negativamente (Quadro 1)

(Figura 1). Enquanto a emergência do parasitoide sofreu influência negativa e declinante pelo período de armazenamento dos ovos do hospedeiro, onde os valores obtidos aos 0 e 90 dias foram de 81.24 ± 6.77 e $62.74 \pm 5.48\%$, respectivamente (Quadro 1).

A duração do ciclo de vida, número de indivíduos por ovo e longevidade dos parasitoides não tiveram diferença significativa (Quadro 1) (Imagem 1).

DISCUSSÃO

Ovos do percevejo *N. viridula* armazenados em ultrafreezer podem ser utilizados para reprodução de *O. submetallicus*, sem redução na porcentagem de parasitismo. Pelo contrário, houve um aumento na porcentagem de ovos parasitados em comparação a testemunha que não continha ovos armazenados em ultrafreezer a -80°C . Em ovos de *E. heros* armazenados em nitrogênio líquido por até 180 dias, foi observado uma diminuição no parasitismo dos ovos, sendo $87,78 \pm 3,03$ e o menor $73,33 \pm 5,35$, parasitismo obtidos aos 0 e 180 dias, respectivamente. Valores de parasitismo acima de 70% são considerados adequados para a multiplicação do parasitoide (SANOMIA et al., 2020). Além da porcentagem de parasitismo, também é possível avaliar a qualidade dos ovos armazenados em baixas temperaturas por meio do desenvolvimento dos descendentes produzidos nesses ovos (KIVAN e KILIC, 2005). Temperaturas mais frias, como -80° ou -196°C , são mais adequadas para o armazenamento de ovos para multiplicação de parasitoides (SILVA et al., 2019).

Conforme ocorre o envelhecimento dos ovos armazenados, pode ocorrer perda de água através da cutícula do inseto para o ambiente e com isso afetar as características dos embriões em desenvolvimento (KIVAN e KILIC, 2005; COLINET e BOIVIN, 2011). Condições inadequadas de armazenamento influenciam negativamente as qualidades de parasitismo dos parasitoides (MAINALI e LIM, 2013). A redução observada para o parasitismo, mesmo não sendo significativa, pode estar relacionada a esses fatores ocorridos com o armazenamento dos ovos.

Ocorreu uma variabilidade nas taxas de emergência dos parasitoides, sendo acima de 80% para ovos sem armazenamento (testemunha), enquanto para os períodos de armazenamento, 15 a 60 dias, as taxas ficaram no geral próximas ou abaixo dos 50%. E somente no período de armazenamento por 90 dias que os valores ficaram superiores a 60%. Ovos de *E. heros* armazenados em nitrogênio líquido por até 180 dias, indicaram taxas de emergência, superiores a 90%, indicando o nitrogênio líquido como adequado

para garantir boa emergência aos ovos armazenados por períodos prolongados. Vários autores encontraram diferentes resultados para emergência dos parasitoides em ovos armazenados por diferentes períodos de armazenamento e de temperatura (CORRÊA-FERREIRA, 1993, KIVAN e KILIC, 2005; MAHMOUD e LIM 2007; SANOMIA et al., 2020).

A duração do ciclo de vida sofreu variações entre os diferentes períodos de armazenamento, variando de 16,20 para 90 dias armazenados a 18 dias para 45 e 60 dias de armazenamento e em ovos de armazenados por 0 a 30 dias o ciclo de vida foi de 17 dias. Em ovos de *E. heros* armazenados em nitrogênio líquido, o processo de vitrificação pelo qual os ovos foram submetidos pode ser a causa de não ter sido encontrado variabilidade no ciclo de vida dos parasitoides, devido ao rápido processo de congelamento por qual os ovos passam, evitando assim danos às estruturas dos materiais armazenados (VAJTA e NAGY, 2006).

O número de indivíduos por ovo teve redução a partir dos 60 dias. Ovos de *E. heros* armazenados em nitrogênio líquido também tiveram redução no número de indivíduo por ovo a partir dos 60 dias de armazenamento (SANOMIA et al., 2020).

Os períodos de armazenamento dos ovos em ultrafreezer aparentemente provocaram uma mudança na longevidade das fêmeas oriundas desses ovos. Ao armazenar os ovos em ultrafreezer, foi possível observar o aumento no período de armazenamento, sendo maior aos 60 dias. Nos períodos de 0 e 15 dias, a longevidade foi pouco superior a 5 dias, já para os períodos mais longos, 60 e 90 dias, os resultados foram de 11,50 e 9,80 dias, respectivamente. Em ovos de *E. heros* armazenados no nitrogênio líquido a longevidade dos parasitoides ficou por volta dos 12 dias, não sofrendo variações conforme os períodos de armazenamento em nitrogênio alteravam (SANOMIA et al., 2020).

A técnica de armazenamento de ovos em ultrafreezer pode ser adotada por até 90 dias, porém novos estudos utilizando períodos maiores são necessários para comprovar a viabilidade dos ovos após os 90 dias, abrangendo períodos de um ano ou mais. Essa técnica pode ser empregada quando se tem disponível o ultrafreezer, não necessitando das recargas que são necessárias quando se usa o nitrogênio líquido.

CONCLUSÃO

Fêmeas de *O. submetallicus* conseguem parasitar e se desenvolver em ovos de *N. viridula* armazenados em ultrafreezer de 0 a 90 dias, porém sua emergência é reduzida em 50% após o armazenamento.

AGRADECIMENTOS

À CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela concessão de bolsa de estudo. À Dr^a Jocelia Grazia do Departamento de Zoologia UFRGS pela identificação das espécies de pentatomídeos. Ao CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelo apoio financeiro para realização da pesquisa. A FUNDECT - Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul, pelo apoio financeiro para realização da pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, F. A.; LIMA, S. S. L.; ZABINI, A. V.; PATTARO, F. C.; BORGES, L. M. Viabilidade de ovos de *Nezara viridula* (L.) armazenados a baixas temperaturas para o parasitismo por *Trissolcus basal* (Woll.). **Acta Scientiarum**, v. 22, p. 963-967, 2000.

AYVAZ, A.; KARASU, E.; KARABORKLU, S.; TUNÇBILEK, A. S. Effects of cold storage, rearing temperature, parasitoid age and irradiation on the performance of *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 44, p. 232-240, 2008.

BANNO, Y.; NAGASAKI, K.; TSUKADA, M.; MINOHARA, Y.; BANNO, J.; NISHIKAWA, K.; YAMAMOTO, K.; TAMURA, K.; FUJII, T. Development of a method for long-term preservation of *Bombyx mori* silkworm strains using frozen ovaries. **Cryobiology**, v. 66, p. 283-287, 2013.

CASTRO, S. V.; CARVALHO, A. A. C.; da SILVA, C. M. G.; FAUSTINO, L. R.; FIGUEIREDO, J. R.; RODRIGUES, A. P. R. Agentes crioprotetores intracelulares: características e utilização na criopreservação de tecido ovariano e oócitos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 39, p. 1-17, 2011.

COLINET, H.; BOIVIN, G. Insect parasitoids cold storage: A comprehensive review of factors of variability and consequences. **Biological Control**, v. 58, p. 83–95, 2011.

CORRÊA-FERREIRA, B. S. **Utilização do parasitoide de ovos *Trissolcus basal* (Wollaston) no controle de percevejos da soja**. Londrina: Embrapa Soja, 1993, 30 p.

CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. Storage techniques of stink bug eggs for laboratory production of the parasitoid, *Trissolcus basal* (Wollaston). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 28, p. 1247-1253, 1993.

CORRÊA-FERREIRA, B. S.; OLIVEIRA, M. C. N. Viability of *Nezara viridula* (L.) eggs for parasitism by *Trissolcus basal* (Woll.), under different storage techniques in liquid nitrogen. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, p. 101-107, 1998.

CORRÊA-FERREIRA, B. S.; SOSA-GÓMEZ, D. R. **Percevejos e o sistema de produção soja/milho**. Londrina: Embrapa Soja, 2017, 98 p.

CORRÊA-FERREIRA, B. S. *Trissolcus basal* para o controle de percevejos da soja. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J. M. S. **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, p.449-476, 2002.

FACA, E. C.; PEREIRA, F. F.; FERNANDES, W. C.; SILVA, I. F.; COSTA, V. A.; WENGRAT, A. P. G. S. Reproduction of *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) and *Trissolcus sp. aff. urichi* (Hymenoptera: Scelionidae) in Eggs of *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) of Different Ages. **Journal of Agricultural Science**, v. 13, p. 96-106, 2021.

FAVETTI, B. M.; BUTNARIU, A. R.; DOETZER, A. K. Storage of *Euschistus heros* Eggs (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae) in Liquid Nitrogen for Parasitization by *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Platygasteridae). **Neotropical Entomology**, v. 43, p. 291-293, 2014.

FONTES, E. M. G.; VALADARES-INGLIS, M. C. **Controle biológico de pragas da agricultura. Brasília**, EMBRAPA, 2020, 510 p. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1121825>. Acesso em: Fevereiro de 2022.

GRECO, C. F.; STILINOVIC, D. Parasitization performance of *Trichogramma* spp. (Hym., Trichogrammatidae) reared on eggs of *Sitotroga cerealella* Oliver (Lep., Gelechiidae), stored at freezing and subfreezing conditions. **Journal of Applied Entomology**, v. 122, p. 311-314, 1998.

KIVAN, M; KILIC, N. Effects of storage at low-temperature of various heteropteran host eggs on the egg parasitoid, *Trissolcus semistriatus*. **BioControl**, v. 50, p. 589-600, 2005.

KRECHEMER, F. S. **Trichogramma spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae): biologia em ovos de Trichoplusia ni (Lepidoptera: Noctuidae) e estocagem em baixas temperaturas em ovos de Pseudaletia sequax (Lepidoptera: Noctuidae)**. Dissertação Mestrado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, p. 1-74, 2010,

LEOPOLD, R. A.; RAJAMOCHAN, A.; SHELLY, T. E.; HANDLER, A. M. Quality Testing of Three Species of Tephritid Fruit Flies After Embryo Cryopreservation. **CONSERVATION BIOLOGY AND BIODIVERSITY**, v. 103, p. 264-272, 2010.

LEOPOLD, R. A.; ROJAS, R. R.; ATKINSON, P. W. Post Pupariation Cold Storage of Three Species of Flies: Increasing Chilling Tolerance by Acclimation and Recurrent Recovery Periods. **CRYOBIOLOGY**, v. 36, p. 213-224, 1998.

MAHMOUD, A. M. A.; LIM, U. T. Evaluation of cold-stored eggs of *Dolycoris baccarum* (Hemiptera: Pentatomidae) for parasitization by *Trissolcus nigripedius* (Hymenoptera: Scelionidae). **Biological Control**, v. 43, p. 287-293, 2007.

MAINALI, B. P.; LIM, U. T. Quality assessment of *Riptortus pedestris* (Hemiptera: Alydidae) eggs cold-stored at different temperature and relative humidity regime. **Biological Control**, v. 64, p. 132-137, 2013.

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

PANIZZI, A. R.; BUENO, A. F.; SILVA, F. A. C. **Insetos que atacam vagens e grãos**. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. Brasília. p. 859, 2012.

PEVERIERI, G. S.; FURLAN, P.; BENASSAI, D.; STRONG, W. B.; ROVERSI, P. F. Long-term storage of eggs of *Leptoglossus occidentalis* for the mass-rearing of its parasitoid *Gryon pennsylvanicum*. **BioControl**, v. 60, p. 293-306, 2015.

RODRIGUES, S. M. M.; SAMPAIO, M. V. Armazenamento de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em baixas temperaturas. **Instituto Biológico**, v. 78, p. 45-51, 2011.

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, p. 1-8, 2020.

SILVA, G. V.; BUENO, A. F.; FAVETTI, B. M.; NEVES, P. M. O. J. Use of Low Temperature Storage to Preserve Host and Parasitoid to Improve the Rearing of *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygasteridae) on *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) Eggs. **Neotrop Entomol**, v. 48, p. 126-135, 2019.

VAJTA, G.; NAGY, Z. P. Are programmable freezers still needed in the embryo laboratory? Review on vitrification. **Reproductive Biomedicine Online**, v. 12, p. 779-796, 2006.

WANG, W. B.; LEOPOLD, R. A.; NELSON, D. R.; FREEMAN, T. P. Cryopreservation of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) Embryos. **Cryobiology**, v. 41, p. 153-166, 2000.

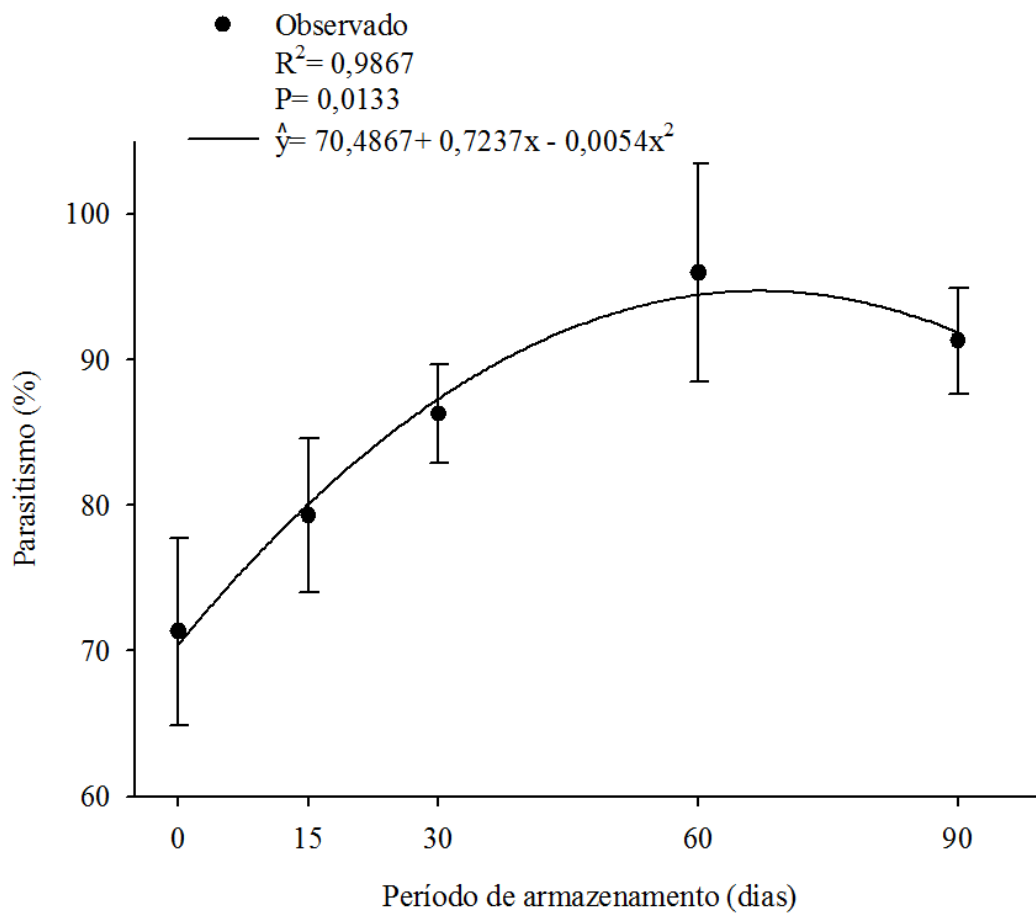


Figura 1. Porcentagem de parasitismo de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) em função dos diferentes períodos de armazenamento de ovos de *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) armazenados em ultrafreezer a -80°C por diferentes períodos. Dourados, MS, 2021.

Quadro 1: Características biológicas (média±EP) de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) em ovos de *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) armazenados por diferentes períodos em ultrafreezer (-80°C). Dourados, MS, 2021.

Características biológicas	Tempo de armazenamento (dias)					Média geral	
	0	15	30	60	90		
Emergência (%)	81,24 ± 6,77	44,37 ± 6,94	43,78 ± 5,87	40,76 ± 7,79	62,74 ± 5,48	54,58 ± 6,57	n.s
Ciclo de vida ¹	17,00 ± 0,00	17,23 ± 0,12	17,08 ± 0,08	18,00 ± 0,00	16,20 ± 0,11	17,10 ± 0,06	n.s
Ind/ovo ²	1,61 ± 0,11	1,56 ± 0,12	1,68 ± 0,12	1,69 ± 0,14	1,43 ± 0,10	1,59 ± 0,12	n.s
Longevidade ³	5,30 ± 0,21	5,20 ± 0,25	8,20 ± 0,76	11,50 ± 1,49	9,80 ± 0,68	8,00 ± 0,68	n.s

^{n.s}= Não significativo ($p > 0,05$). ¹Tempo entre o parasitismo dos ovos e emergência dos adultos, ²nº de indivíduos/ovo, ³nº de dias dos descendentes de *O. submetallicus*



Imagem 1. Emergência de fêmea de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) de ovos de *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) armazenados em ultrafreezer. UFGD, Dourados, MS, 2021.

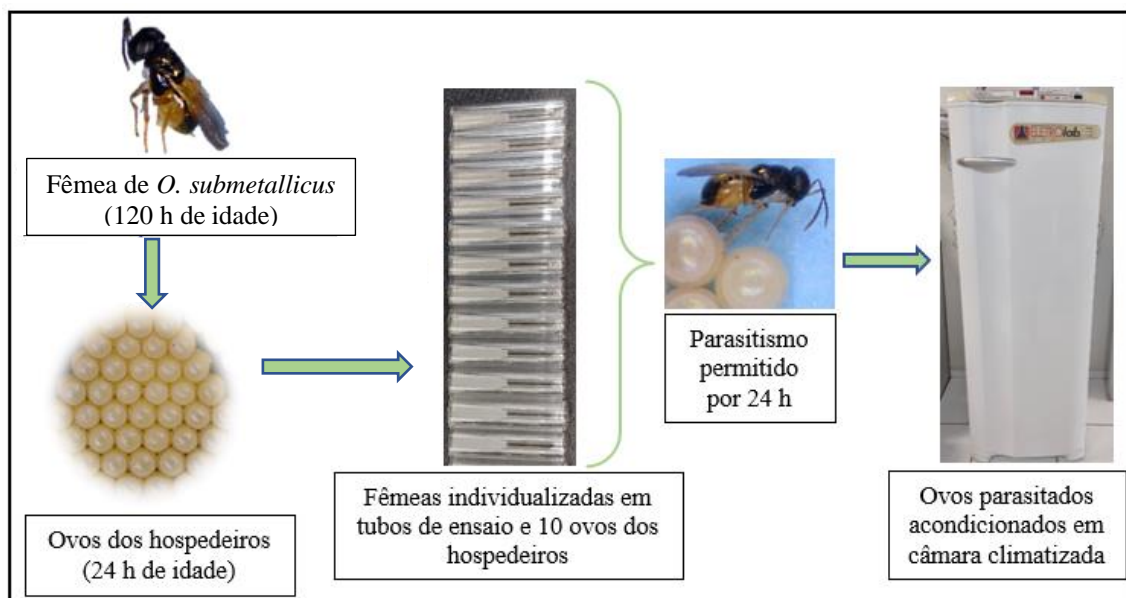
CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados encontrados, foi possível compreender melhor a capacidade de parasitismo de *O. submetallicus* em ovos de alguns percevejos e em ovos do bicho da seda *B. mori*, que pode vir a ser usado na multiplicação massal do parasitoide para controle biológico de percevejos pragas nas lavouras.

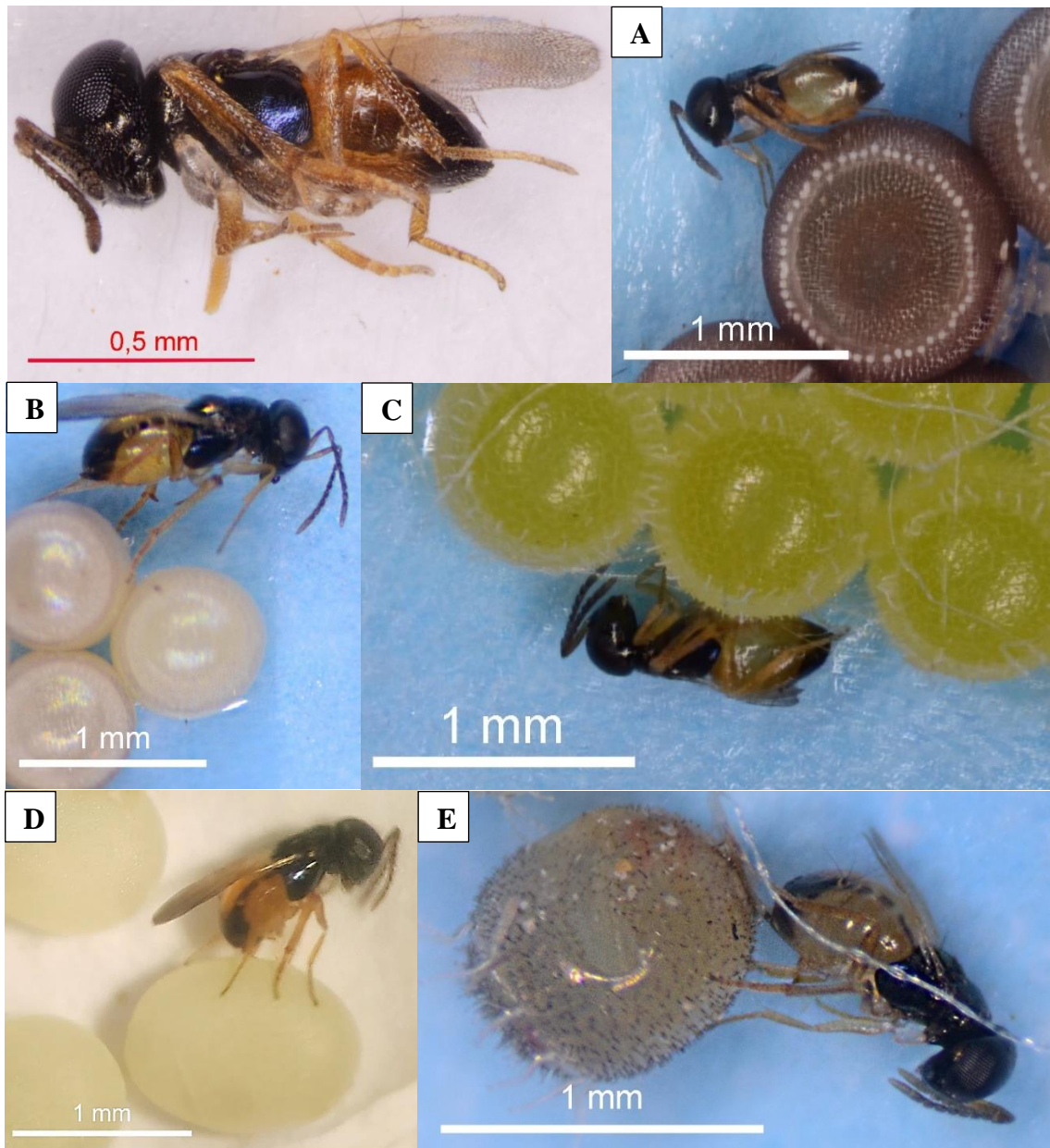
Ovos de *B. mori*, por não ser um hospedeiro natural do parasitoide, foi parasitado com mais dificuldade pelo *O. submetallicus* e os parasitoides tiveram mais dificuldade em sair dos ovos, porém quando a densidade foi aumentada os resultados de parasitismo e emergência melhoraram.

O armazenamento de ovos de *N. viridula* em ultrafreezer a -80°C facilita a produção de *O. submetallicus* em períodos com baixa oferta de hospedeiro ou então armazenar grandes quantidades de ovos e usá-los quando houver necessidade de grande produção de parasitoides.

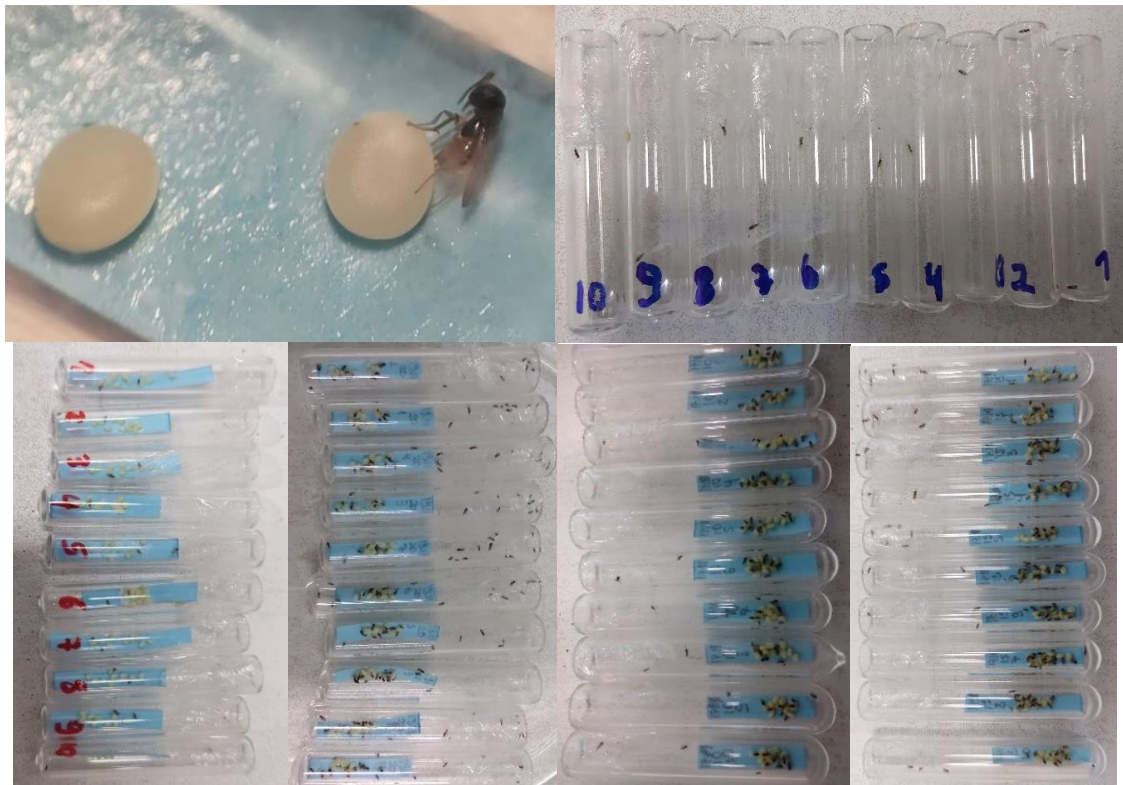
ANEXOS



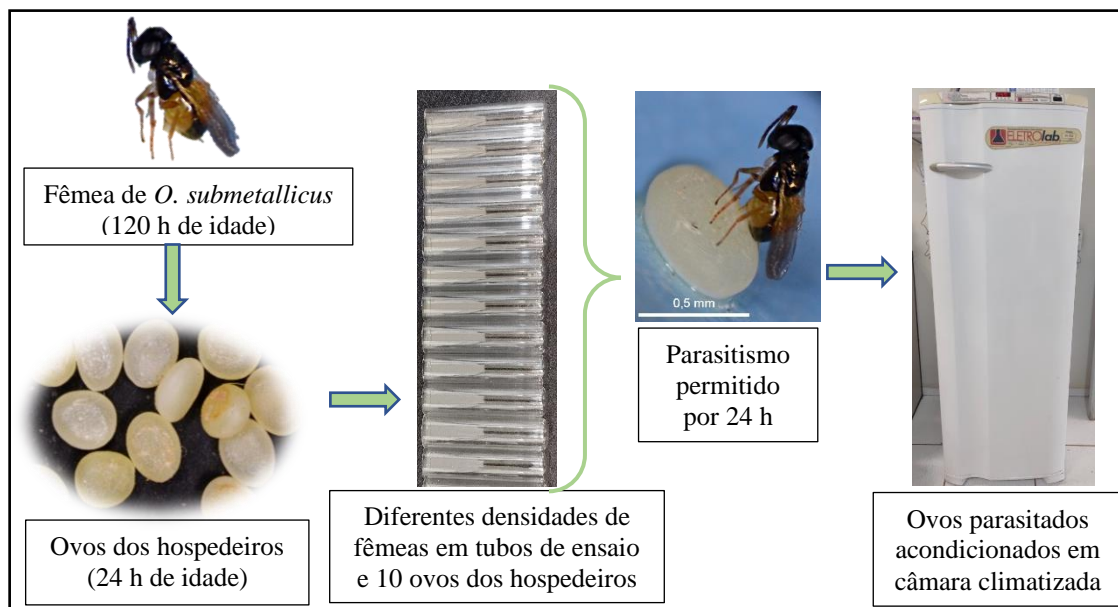
ANEXO 1. Detalhes da metodologia de Biologia Comparada com *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae). UFGD, Dourados, MS, 2021.



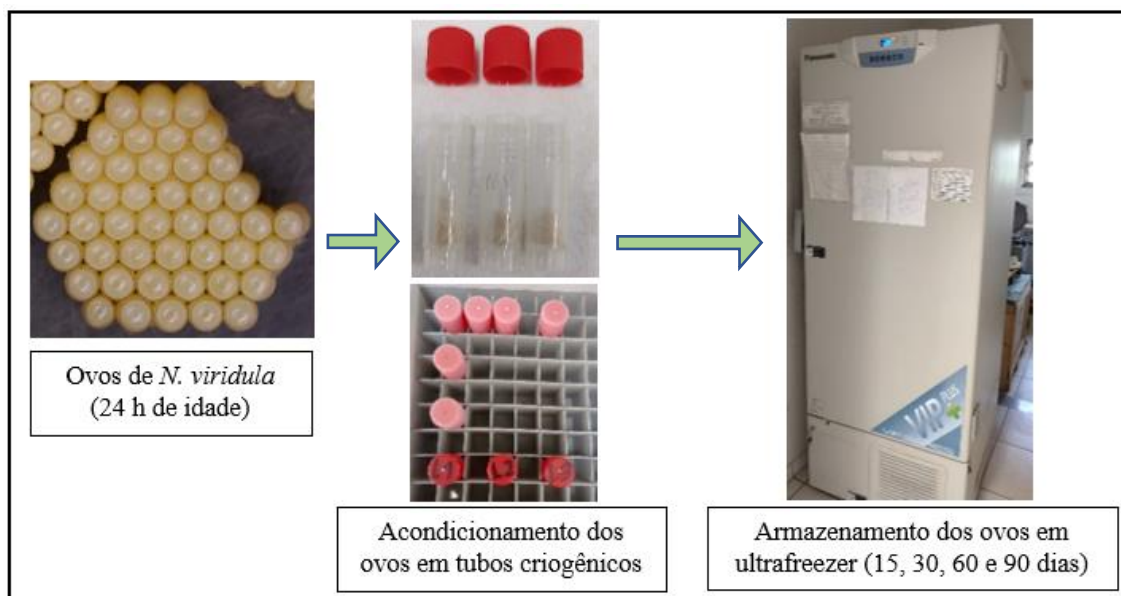
ANEXO 2. *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) parasitando diferentes hospedeiros (A – *Chinavia pengue*, B - *Nezara viridula*, C - *Euschistus heros*, D - *Bombyx mori*, E - *Podisus nigrispinus*). UFGD, Dourados, MS, 2021.



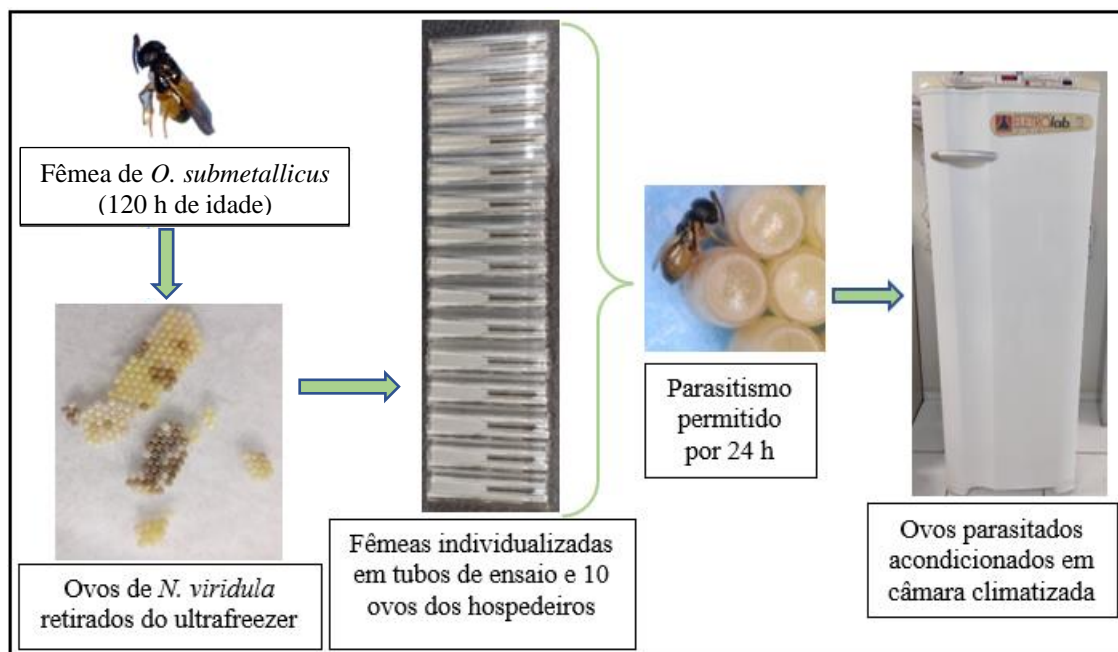
ANEXO 3. Montagem do experimento com diferentes densidades de fêmeas de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) em ovos de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). UFGD, Dourados, MS, 2021.



ANEXO 4. Detalhes da metodologia de densidade de fêmeas de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) em ovos de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). UFGD, Dourados, MS, 2021.



ANEXO 5. Detalhes do armazenamento de ovos de *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) em ultrafreezer por diferentes períodos para montagem de experimento. UFGD, Dourados, MS, 2021.



ANEXO 6. Fluxograma do experimento de armazenamento de ovos de *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) em ultrafreezer por diferentes períodos. UFGD, Dourados, MS, 2021.