

Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD)  
Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade

**BIOLOGIA REPRODUTIVA E CRIAÇÃO DE *Trichospilus*  
*diatraeae* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EM PUPAS DE  
*Bombyx mori* (LEPIDOPTERA: BOMBYCIDAE)**

VANESSA RODRIGUES FERREIRA CALADO

DOURADOS-MS  
(FEVEREIRO/2011)

Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD)  
Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade

**BIOLOGIA REPRODUTIVA E CRIAÇÃO DE *Trichospilus*  
*diatraeae* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EM PUPAS DE  
*Bombyx mori* (LEPIDOPTERA: BOMBYCIDAE)**

VANESSA RODRIGUES FERREIRA CALADO

Orientador: Fabricio Fagundes Pereira

DOURADOS-MS  
(FEVEREIRO/2011)

Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD)  
Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade

**BIOLOGIA REPRODUTIVA E CRIAÇÃO DE *Trichospilus*  
*diatraeae* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EM PUPAS DE  
*Bombyx mori* (LEPIDOPTERA: BOMBYCIDAE)**

VANESSA RODRIGUES FERREIRA CALADO

Orientador: Fabricio Fagundes Pereira

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Entomologia e Conservação da Biodiversidade.

DOURADOS-MS  
(FEVEREIRO/2011)

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central - UFGD**

595.75 Calado, Vanessa Rodrigues Ferreira  
C141b Biologia reprodutiva e criação de *Trichospilus diatraeae*  
(Hymenoptera : Eulophidae) em pupas de *Bombyx mori*  
(Lepidoptera: Bombycidae) / Vanessa Rodrigues Ferreira Calado.  
– Dourados, MS : UFGD, 2011.  
79f.

Orientador: Prof. Dr. Fabricio Fagundes Pereira.  
Dissertação (Pós-Graduação em Entomologia e Conservação  
da Biodiversidade) – Universidade Federal da Grande Dourados.

1. Insetos - Controle biológico. 2. Himenópteros. 3.  
Lepidópteros 4. Parasitóide de pupa. 5. Controle de pragas. I.  
Título.

**“BIOLOGIA REPRODUTIVA E CRIAÇÃO DE *Trichospilus diatraeae* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EM PUPAS DE *Bombyx mori* (LEPIDOPTERA: BOMBYCIDAE)”**

Por

VANESSA RODRIGUES FERREIRA CALADO

Dissertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD,  
como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de  
MESTRE EM ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE  
Área de concentração: Entomologia

---

Prof. Dr. Fabricio Fagundes Pereira  
Orientador – UFGD

---

Prof. Dr. Alan de Souza Silva  
Universidade Anhanguera-UNIDERP  
Faculdade Anhanguera de Dourados

---

Profª. Drª Rosilda Mara Mussury  
Membro Titular UFGD/FCBA

---

Patrik Luiz Pastori  
Bolsista PNPd/ CAPES-UFGD

**A Deus,**  
pela vida e saúde.

**Aos meus pais Edmilson e Eva,**  
pela dedicação e incentivo.

**À minha irmã Carlyne,**  
pelo apoio e incentivo.

**À minha avó Antônia (*in memoriam*),**  
pelo amor e carinho

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre estar protegendo e iluminando meu caminho.

À Universidade Federal da Grande Dourados, pelas instalações e toda infraestrutura cedida para a realização deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade da Universidade Federal da Grande Dourados, pela oportunidade de realização do curso de Mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de estudo.

Ao Prof. Dr. Fabricio Fagundes Pereira, pela dedicação na orientação dos experimentos, pelos valiosos ensinamentos e exemplo profissional.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia pelos ensinamentos transmitidos.

A Elizangela Leite Vargas Grance e Daniele Fabiana Glaeser, pela amizade, carinho e ajuda na condução dos experimentos e pela animadora, divertida companhia.

Aos colegas da equipe do Laboratório de Entomologia/Controle Biológico, Kellen Fávero, Maikon Alex Barbosa Santos, Roberto Augusto Chichera, Fabiana Garcia de Oliveira, Daniele Perassa Costa pela amizade e pelo trabalho desenvolvido.

Ao amigo Patrik Luiz Pastori, pela generosidade e ajuda.

À técnica Janete Pizarine Greff de Lima pela convivência e colaboração.

À minha família pelo apoio e compreensão, pelo incentivo, por estarem sempre do meu lado.

Aos colegas do Mestrado em Entomologia, pela convivência.

Às amigas Ana Carla Coelho Morais e Tathiane Araújo da Cruz Braz, pela companhia, pela confiança e amizade verdadeira.

À empresa Bratac® pela concessão de ovos de *Bombyx mori*, especialmente a Sr<sup>a</sup> Cecília.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, minha infinita gratidão.

## SUMÁRIO

RESUMO GERAL.....	ix
ABSTRACT.....	x
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
OBJETIVO GERAL.....	6
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	7
Capítulo I – Criação de <i>Trichospilus diatraeae</i> (Hymenoptera: Eulophidae) nos hospedeiros <i>Diatraea saccharalis</i> (Lepidoptera: Crambidae) e <i>Bombyx mori</i> (Lepidoptera: Bombycidae).....	11
Resumo.....	12
Abstract.....	12
Introdução.....	13
Material e Métodos.....	13
Resultados.....	15
Discussão.....	16
Conclusão.....	17
Agradecimentos.....	17
Referências Bibliográficas.....	17
Tabela 1.....	20
Figura 1.....	21
Capítulo II - Densidade de fêmeas de <i>Trichospilus diatraeae</i> (Hymenoptera: Eulophidae) por pupa de <i>Bombyx mori</i> (Lepidoptera: Bombycidae).....	22
Resumo.....	23
Abstract.....	23
Introdução.....	24
Material e Métodos.....	24
Resultados.....	26
Discussão.....	27
Conclusão.....	29
Agradecimentos.....	29
Referências Bibliográficas.....	29
Figura 1.....	32



Figura 2.....	33
Figura 3.....	34
Figura 4.....	35

Capítulo III – Progenie de <i>Trichospilus diatraeae</i> (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de <i>Bombyx mori</i> (Lepidoptera: Bombycidae) de diferentes idades.....	36
Resumo.....	37
Abstract.....	37
Introdução.....	38
Material e Métodos.....	38
Resultados.....	40
Discussão.....	41
Conclusões.....	43
Agradecimentos.....	43
Referências Bibliográficas.....	43
Figura 1.....	46
Figura 2.....	47
Figura 3.....	48
Figura 4.....	49

Capítulo IV - Parasitismo e desenvolvimento de <i>Trichospilus diatraeae</i> (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de <i>Bombyx mori</i> (Lepidoptera: Bombycidae) em diferentes temperaturas.....	50
Resumo.....	51
Abstract.....	51
Introdução.....	52
Material e Métodos.....	52
Resultados.....	54
Discussão.....	55
Conclusões.....	56
Agradecimentos.....	56
Referências Bibliográficas.....	57
Figura 1.....	60
Figura 2.....	61

Figura 3.....	62
Figura 4.....	63
CONCLUSÕES GERAIS.....	64

## RESUMO GERAL

O endoparasitóide *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) possui hábito gregário e parasita principalmente pupas de Lepidoptera. Seu potencial como agente de controle biológico é pouco conhecido no Brasil. Por este motivo, esta pesquisa teve como objetivo avaliar a viabilidade de pupas de *Bombyx mori* Linneaus, 1758 (Lepidoptera: Bombycidae) como hospedeiro alternativo de *T. diatraeae*, visando otimizar sua criação em laboratório. Esta pesquisa foi conduzida no Laboratório de Entomologia/Controle Biológico da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados. Inicialmente, avaliou-se a criação de *T. diatraeae* nos hospedeiros *B.mori* e *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). Doze pupas de *B. mori* e de *D. saccharalis*, de 72 e 24 horas de idade respectivamente e foram expostas ao parasitismo por 21 fêmeas parasitóides. A duração do ciclo de vida de *T. diatraeae* foi de  $19,44 \pm 0,12$  e  $18,00 \pm 0,05$  dias em pupas de *D. saccharalis* e *B. mori*, respectivamente, com 100% de parasitismo nos dois hospedeiros e 66,6 e 75% de emergência da progênie deste parasitóide em pupas de *D. saccharalis* e *B. mori* respectivamente. A progênie de *T. diatraeae* foi de  $354,50 \pm 43,21$  e  $469,11 \pm 15,19$  por pupa de *D. saccharalis* e *B. mori*, respectivamente. *T. diatraeae* apresenta bom desenvolvimento em pupas de *D. saccharalis* e de *B. mori* em laboratório. Posteriormente avaliou-se a densidade de fêmeas de *T. diatraeae* criado em pupas de *B. mori*. Para isso, pupas de *B. mori* com 72 horas de idade foram expostas ao parasitismo por fêmeas de *T. diatraeae* com 24 a 48 horas de idade, por 24 horas nas relações parasitóide-hospedeiro 1:1, 14:1, 28:1, 56:1, 112:1 ou 224:1, respectivamente, com 12 repetições para cada tratamento. A porcentagem de parasitismo de *T. diatraeae* em pupas de *B. mori* foi de 84% e 95% para as densidades 1:1 e 56:1, respectivamente e de 100% para as demais. A porcentagem de emergência de progênie variou de 12% a 84% nas densidades estudadas. A duração do ciclo de *T. diatraeae* foi de  $24,20 \pm 2,49$  dias e de  $20,00 \pm 0,00$  dias nas densidades de 1:1 e 224:1, respectivamente. A progênie por pupa variou de  $37,60 \pm 41,00$  a  $461,00 \pm 0,00$  descendentes por pupa, nas densidades de 1:1 e 224:1, respectivamente. A densidade de 28 fêmeas de *T. diatraeae* por pupa de *B. mori* foi a mais adequada para criação desse parasitóide em laboratório. Em seguida avaliou-se o efeito da idade de pupas de *B. mori* nas características biológicas de *T. diatraeae* em laboratório. Pupas de *B. mori* com 24, 48, 72, 96 ou 120 horas de idade, foram expostas

ao parasitismo por 28 fêmeas de *T. diatraeae* com idade de 24 a 48 horas de idade por 24 horas e com 12 repetições, para cada tratamento. A porcentagem de parasitismo de *T. diatraeae* em pupas de *B. mori* foi de 8,3% e 25% para pupas com idades de 24 e 48 horas, respectivamente e de 100% para as demais. A porcentagem de emergência de progênie variou de 0% a 91,6%. A duração do ciclo de *T. diatraeae* foi de  $19,00 \pm 0,00$  dias e de  $18,00 \pm 0,35$  dias nas pupas com idades de 48 e 120 horas, respectivamente. A progênie por pupa variou de  $277,00 \pm 110,31$  a  $489,37 \pm 255,40$  descendentes nas pupas com idades de 48 e 120 horas, respectivamente. Pupas de *B. mori* com idades entre 72 a 120 horas são mais adequadas para criação de *T. diatraeae* em condições de laboratório. Avaliou-se diferentes temperaturas no parasitismo e desenvolvimento de *T. diatraeae* em pupas de *B. mori*. Pupas de *B. mori* com 72 horas de idade, foram individualizadas em tubos de vidro com 28 fêmeas de *T. diatraeae* (24 a 48 horas de idade). Os tubos contendo as pupas com as fêmeas parasitóides foram transferidos para câmaras climatizadas nas temperaturas de 16, 19, 22, 25, 28 ou 31°C,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 horas, respectivamente, onde foram expostas ao parasitismo por 24 horas, com 12 repetições para cada tratamento. A porcentagem de parasitismo de *T. diatraeae* em pupas de *B. mori* foi de 91,6% para as temperaturas de 16 e 19°C e de 100% para as demais. A porcentagem de emergência de progênie variou de 0% a 58% para temperaturas testadas. A duração do ciclo de *T. diatraeae* foi de  $60,00 \pm 0,00$  dias e de  $15,71 \pm 0,49$  dias nas temperaturas de 16 e 28°C, respectivamente. A progênie por pupa variou de  $23,00 \pm 0,00$  a  $155,29 \pm 86,80$  descendentes nas temperaturas de 16 e 28°C, respectivamente. *T. diatraeae* apresentou desenvolvimento satisfatório em pupas de *B. mori* nas temperaturas de 22 a 28 °C em laboratório. Esses resultados contribuem para o desenvolvimento de técnicas de criação em massa de *T. diatraeae* em pupas de *B. mori* e viabiliza o uso desse inimigo natural em programas de controle biológico, especialmente da broca-da-cana-de-açúcar *D. saccharalis*.

## ABSTRACT

The endoparasitoid *Trichospilus diatraeae* Margabandhu & Cherian, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) is parasites mainly pupae of Lepidoptera. Its potential as a biological control agent is not connected in Brazil. For this reason, this research aimed to evaluate the viability of the pupae of *Bombyx mori* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Bombycidae) as an alternative host for *T. diatraeae* to optimize its creation in the laboratory. This research was conducted at the Laboratory of Entomology / Biological Control, Faculty of Agrarian Sciences, Federal University of Grande Dourados. Initially, we evaluated the development of *T. diatraeae* in hosts *B.mori* and *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). Twelve pupae of *B. mori* and *D. saccharalis*, 72 and 24 hours old respectively and were exposed to parasitism by 21 female parasitoids. The duration of the life cycle of *T. diatraeae* was  $19.44 \pm 0.12$  and  $18.00 \pm 0.05$  days in pupae of *D. saccharalis* and *B. mori*, respectively, with 100% parasitism in both host and 66.6 and 75% emergence of the progeny of the parasitoid pupae of *D. saccharalis* and *B. mori* respectively. The progeny of *T. diatraeae* was  $354.50 \pm 43.21$  and  $469.11 \pm 15.19$  per pupa of *D. saccharalis* and *B. mori*, respectively. *T. diatraeae* shows good development in pupae of *D. saccharalis* and *B. mori* in the laboratory. Subsequently we estimated the density of female *T. diatraeae* created in pupae of *B. mori*. For this, the pupae of *B. mori* with 72 hours of age were exposed to parasitism by females of *T. diatraeae* 24 to 48 hours old, for 24 hours in parasitoid-host relationships 1:1, 14:1, 28:1, 56:1, 112:1 and 224:1, respectively, with 12 repetitions for each treatment. The percentage of parasitism of *T. diatraeae* in pupae of *B. mori* was 84% and 95% for the densities 1:1 and 56:1, respectively, and 100% for the others. The percentage of emergence of progeny ranged from 12% to 84% in the studied densities. The cycle of *T. diatraeae* was  $24.20 \pm 2.49$  days and  $20.00 \pm 0.00$  days at densities of 1:1 and 224:1, respectively. The density of 28 females of *T. diatraeae* by pupa of *B. mori* was the most suitable for rearing this parasitoid in the laboratory. Then we evaluated the effect of age of the pupae of *B. mori* on biological characteristics of *T. diatraeae* laboratory. Pupae of *B. mori* 24, 48, 72, 96 or 120 hours of age were exposed to parasitism by 28 females of *T. diatraeae* aged 24 to 48 hours of age for 24 hours and 12 replicates for each treatment. The percentage of parasitism of *T. diatraeae* in pupae of *B. mori* was 8.3% and 25% for pupae aged 24 and 48 hours respectively and 100% for the others. The percentage of emergence of progeny ranged

from 0% to 91.6%. The cycle of *T. diatraeae* was  $19.00 \pm 0.00$  days and  $18.00 \pm 0.35$  days in the pupa ages of 48 and 120 hours respectively. Progeny pupa ranged from  $277.00 \pm 110.31$  to  $489.37 \pm 255.40$  descendants in the pupa ages of 48 and 120 hours respectively. Pupae of *B. mori* aged between 72 and 120 hours are better suited for creating *T. diatraeae* under laboratory conditions. We evaluated different temperatures on the development and parasitism of *T. diatraeae* in pupae of *B. mori*. Pupae of *B. mori* 72 hours old, were placed in separate glass vials with 28 females of *T. diatraeae* (24 to 48 hours old). The tubes containing the pupae with parasitoid females were transferred to a climatic chamber at temperatures of 16, 19, 22, 25, 28 or 31°C, 70 ± 10% relative humidity and photoperiod of 14 hours, respectively, where they were exposed to parasitism by 24 hours, with 12 repetitions for each treatment. The percentage of parasitism of *T. diatraeae* in pupae of *B. mori* was 91.6% for the temperatures of 16 and 19 ° C and 100% for the others. The percentage of emergence of progeny ranged from 0% to 58% for temperatures. The cycle of *T. diatraeae* was  $60.00 \pm 0.00$  days and  $15.71 \pm 0.49$  days at temperatures of 16 and 28 ° C, respectively. Progeny per pupa ranged from  $23.00 \pm 0.00$  to  $155.29 \pm 86.80$  offspring at temperatures of 16 and 28 ° C, respectively. *T. diatraeae* showed satisfactory development in pupae of *B. mori* at temperatures from 22 to 28 ° C in the laboratory. These results contribute to the development of mass rearing techniques of *T. diatraeae* in pupae of *B. mori* and enables the use of natural enemies in biological control programs, especially the borer cane sugar *D. saccharalis*.

## INTRODUÇÃO GERAL

Diversos estudos e técnicas de criação foram desenvolvidos com parasitóides de ovos e lagartas, dentre eles se destacam *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) que são utilizados com sucesso no controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) (BOTELHO et al., 1995; BOTELHO et al., 1999; BOTELHO & MACEDO, 2002; PEREIRA-BARROS et al., 2005; PINTO et al., 2006; BROGLIO-MICHELETTI et al., 2007). Além dos parasitóides das fases de ovo e larva, *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) é um parasitóide pupal preferencialmente da ordem Lepidoptera (BOUCEK, 1976) que tem sido estudado como inimigo natural com potencial para ser utilizado no controle de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar (GRANCE, 2010).

*Trichospilus diatraeae* foi registrado, no Brasil, pela primeira vez em 1996, em pupas de Arctiidae em Piracicaba, São Paulo (PARON & BERTI-FILHO, 2000), em 2001, em pupas de *Cerconota anonella* (Sepp, 1830) (Lepidoptera: Oecophoridae), em plantios de gravioleira no município de Planaltina, Distrito Federal (OLIVEIRA et al., 2001) e também foi coletado em pupas de *Thyrintina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae) (PEREIRA et al., 2008) e em pupas de *Melanolophia consimilaria* (Lepidoptera: Geometridae) (ZACHÉ et al., 2010) em plantios de eucalipto em Minas Gerais.

A capacidade reprodutiva de *T. diatraeae* foi avaliada em pupas de *D. saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae), *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (PASTORI, 2010), *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) e *Heliothis virescens* Fabricius, 1781 (Lepidoptera: Noctuidae) (PARON & BERTI FILHO, 2000) e *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae) (FÁVERO, 2009).

O desenvolvimento de técnicas de criação de parasitóides para programas de controle biológico depende da escolha do hospedeiro alternativo adequado (PRATISSOLI et al., 2005). Portanto, a qualidade nutricional, tamanho, idade, resistência mecânica e capacidade de resposta imunológica a esses inimigos naturais devem ser considerados na seleção do hospedeiro alternativo (GODFRAY, 1994).

*Bombyx mori* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Bombycidae) pode ser criado em laboratório e sua pupa apresenta alto valor protéico (GREISS et al., 2003; WANG-DUN et al., 2004). Pupas de *B. mori* são recomendadas para criação de *Palmistichus elaeisis*

Delvare & LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) e esse hospedeiro pode ser utilizado como alternativa para criação de endoparasitóides de pupas (PEREIRA et al., 2009).

O número de fêmeas parasitóides por hospedeiro afeta sua capacidade de parasitismo (SAMPAIO et al., 2001) e interferir na produção da progênie (SAGARRA et al., 2000; MATOS NETO et al., 2004), na razão sexual (SAGARRA et al., 2000; ZACARIN et al., 2004; CARNEIRO et al., 2009), no tempo de desenvolvimento e na longevidade dos parasitóides (SILVA-TORRES & MATTHEWS, 2003). Já a idade do hospedeiro afeta o parasitismo, o número e o tamanho dos indivíduos da progênie produzida (MATOS NETO et al., 2004).

A temperatura interfere diretamente no desenvolvimento da população dos insetos, pois é um fator de regulação no desenvolvimento do mesmo (RODRIGUES, 2004). O desenvolvimento do inseto tende a ser alterado em temperatura acima ou abaixo da temperatura ótima (BAZZOCCHI et al., 2003). A faixa de temperatura ideal deve ser determinada, pois interfere na sobrevivência, fecundidade, fertilidade, parasitismo e longevidade dos parasitóides (URBANEJA et al., 2001; RODRIGUES et al., 2004).

### **1-Aspectos taxonômicos e biológicos de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae)**

A família Eulophidae apresenta cerca de 4.472 espécies, é constituída por insetos pequenos entre 0,4 a 0,6mm de comprimento (NOYES, 2003). Espécies dessa família são encontradas em regiões tropicais e temperadas, como endoparasitóides ou ectoparasitoides, especialistas ou generalistas e muitas tem sido estudadas e utilizadas com sucesso em programas de controle biológico (GAUTHIER et al., 2000; HANSSON, 2004). Apesar do grau de especificidade ser variável, Eulophidae é a terceira família de Chalcidoidea mais utilizada no controle biológico (NOYES, 2003). *Trichospilus* Ferrière, 1930 é um pequeno gênero da família Eulophidae e tribo Eulophini, com oito espécies descritas (UBAIDILLAH, 2006). Das oito espécies desse gênero, três foram encontradas somente na África e uma (*Trichospilus lutelineatus* Zhejiang) na China (BOUCEK, 1976). Duas novas espécies, *Trichospilus striatus* Ubaidillah, 2006 e *Trichospilus politus* Ubaidillah, 2006 foram descritas para Java e Sulawesi, Indonésia (UBAIDILLAH, 2006). *Trichospilus pupivora* Ferrière, 1930 ocorre amplamente nas regiões tropicais e subtropicais em todo o mundo (BOUCEK, 1976; BENNETT et al., 1987). *Trichospilus diatraeae* foi descrito por Cherian &



Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), que utilizou exemplares emergidos de pupas de *Diatraea venosata* Walker (Lepidoptera: Crambidae) provenientes do sul da Índia (CHERIAN & MARGABANDHU, 1942).

Os adultos de *T. diatraeae* diferem de *T. pupivora*, espécie-tipo, por serem mais claros e mais largos, além de distinguirem-se também na medida dos artículos antenais, na escultura do escutelo, na variação do número e na disposição de espinhos e nos tufos de cerdas nas asas (CHERIAN & MARGABANDHU, 1942). Outras características morfológicas incluem: gáster com uma ampla ranhura central e pequenas cerdas marginais; tufos de cerdas nas asas anteriores, próximo ao estigma (BOUCEK, 1976).

Os ovos desse parasitóide têm em média 0,2 mm de comprimento, são hialinos, sem esculturações e alongados nas extremidades. O período de incubação dura aproximadamente 24 horas. As larvas de 1 e 2 dias têm em média 0,35mm de comprimento, apresentam cutícula transparente, tornando-se esbranquiçada no estágio seguinte, com segmentação do corpo bem definida. O estágio larval dura de 7 a 8 dias. A pré-pupa tem em média 2,3 mm de comprimento é branca e tem cabeça, tórax e abdome bem definidos. O período de pré-pupa e pupa duram de 9 a 10 dias, respectivamente. A pupa recém formada apresenta apêndices alares e olhos que são inicialmente de coloração rosácea e, posteriormente, tornam-se vermelhos. Os adultos de *T. diatraeae* são de coloração castanho amarelado e tem dimorfismo sexual acentuado. As fêmeas possuem a inserção das antenas na parte central da cabeça e os machos lateralmente, além disso, a forma do abdome das fêmeas é arredondada e nos machos o abdome é mais estreito (PARON, 1999). O aparelho bucal das fêmeas de *T. diatraeae* apresenta mandíbulas mais desenvolvidas que dos machos. As mandíbulas possuem denticulos mandibulares maiores e músculos mandibulares fortes nas fêmeas, pois elas que fazem o orifício para emergirem do hospedeiro. Desta maneira, se não houver fêmeas dentro do hospedeiro os machos não emergem e morrem (BOURNIER, 1975).

*Trichospilus diatraeae* é um parasitóide polífago, gregário, sendo principalmente primário (BOUCEK, 1976; BOURNIER, 1975). A reprodução é por partenogênese arrenótoca, quando não há cópula. No caso de reprodução sexuada a proporção de machos é muito baixa (BOURNIER, 1975).

Há registros de *T. diatraeae* parasitando pupas de várias espécies de Lepidoptera. Esse parasitóide foi multiplicado no hospedeiro *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae) para ser utilizado no controle de noctuídeos

pragas de algodão em Madagascar na África (BOURNIER, 1975). Nas Ilhas Maurício e Reunião (Oceano Índico) *T. diatraeae* foi registrado em pupas de *Chilo sacchariphagus sacchariphagus* (Bojer, 1856) e *Sesamia calamistis* Hampson, 1910 (Lepidoptera: Noctuidae), entre 1963 a 1965 (BOUCEK, 1976). Na Índia, foi registrado parasitando em pupas de Lepidoptera nas famílias Pyralidae, Noctuidae e Crambidae (BOUCEK, 1976).

Nos EUA foram realizados testes de laboratório com objetivo de determinar a suscetibilidade da broca-do-milho, *Diatraea lineolata* Walker, 1856 (Lepidoptera: Pyralidae), a alguns parasitóides, entre eles *T. diatraeae*, que apresentou 100% de parasitismo sobre as pupas de *D. lineolata* (RODRIGUEZ-DEL-BOSQUE & SMITH JUNIOR, 1989), o que demonstra o potencial de *T. diatraeae* no controle de espécies do gênero *Diatraea*.

O potencial de *T. diatraeae* como agente de controle biológico no Brasil é pouco conhecido. A capacidade reprodutiva de *T. diatraeae* foi estudada em pupas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), *Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818, *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) e *Heliothis virescens* Fabricius, 1781 (Lepidoptera: Noctuidae). Todos os hospedeiros testados foram parasitados por *T. diatraeae* e houve emergência de progênie. Apesar de não ter sido observada preferência do parasitóide a uma das espécies de hospedeiro, comparando-se o número de parasitóides emergidos por pupa nas quatro espécies, observou-se que houve menor emergência em *H. virescens* e maior em *S. frugiperda* (PARON & BERTI FILHO, 2000).

A biologia e técnicas de criação de *T. diatraeae* foram estudadas em pupas de *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae) e *D. saccharalis*. Pupas de *T. molitor* são adequadas ao desenvolvimento de *T. diatraeae* e podem ser utilizadas para a criação deste parasitóide. De maneira geral, as características biológicas de *T. diatraeae* são melhores em pupas de *D. saccharalis* do que em pupas de *T. molitor* (FÁVERO, 2009).

O número de fêmeas de *T. diatraeae* por pupa de *D. saccharalis* para sua produção em laboratório e sua utilização em plantas de cana-de-açúcar, foi estudado. A densidade entre 14 e 21 fêmeas do parasitóide por pupa foi a mais adequada em condições de laboratório, com isso foi estimado que a densidade de 56 fêmeas de *T. diatraeae* por pupa de *D. saccharalis* é a indicada para a liberação deste parasitóide em

plantios comerciais de cana-de-açúcar, considerando as condições metodológicas e ambientais em que este trabalho foi desenvolvido (GRANCE, 2010).

Também foi estudado o parasitismo de *T. diatraeae* sobre pupas de *D. saccharalis* na presença de lagartas e fezes desse hospedeiro em colmos de cana-de-açúcar, onde constatou que a presença de lagartas nos colmos favoreceu a localização da pupa desse lepidóptero pelo parasitóide, o que aumentou o percentual de parasitismo (GRANCE, 2010).

A temperatura, a idade do hospedeiro e das fêmeas parasitóides, o armazenamento de pupas do hospedeiro a baixas temperaturas e a dispersão de fêmeas no campo de *T. diatraeae* foram avaliados visando à criação massal e dispersão desse parasitóide em cana-de-açúcar onde constatou que a faixa de temperatura ideal para o desenvolvimento do parasitóide em pupas de *A. gemmatilis* é de 22 a 25°C, fêmeas parasitóides com idade de 96h conseguem parasitar pupas do hospedeiro alternativo com idade de 96h e pupas de *A. gemmatilis* parasitadas e armazenadas à 5°C e mantidas por um curto período de 24h não afeta a reprodução de *T. diatraeae*. Foi constatado também que fêmeas de *T. diatraeae* encontram e parasitam pupas de *D. saccharalis* até 12 metros de distância em campo (PASTORI, 2010).

Avaliou-se também o efeito da temperatura e da umidade relativa do ar na biologia de *T. diatraeae* criados em pupas de *D. saccharalis*, visando sua produção em laboratório, o parasitóide apresentou desenvolvimento satisfatório em pupas de *D. saccharalis*, nas temperaturas entre 16°C e 28°C, de maneira geral os melhores resultados das características biológicas (porcentagem de parasitismo e de emergência, duração do ciclo de vida, progênie e razão sexual) de *T. diatraeae* criados em pupas de *D. saccharalis* foram obtidos ao se utilizar a temperatura de 25°C e umidade relativa de 80%, portanto sugere-se esta combinação de fatores abióticos para criação de *T. diatraeae* em laboratório (RODRIGUES, 2010).

*Trichospilus diatraeae* apresenta grande potencial para o controle de diversos lepidópteros- pragas, dentre eles se destaca *D. saccharalis*, por isto é importante estudar o desenvolvimento de técnicas de produção deste parasitóide em larga escala e em hospedeiros alternativos. Pupas de *B. mori* possuem tamanho e peso maiores que o hospedeiro natural e esse hospedeiro já foi indicado como alternativa para criação de *P. elaeisis* que pertence a mesma família de *T. diatraeae*. Esse motivo foi o que levou a elaboração desta pesquisa em utilizar pupas de *B. mori* como hospedeiro alternativo de *T. diatraeae*.

## OBJETIVO GERAL

Este estudo objetivou avaliar a viabilidade de pupas de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) como hospedeiro alternativo de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) visando otimizar sua criação em laboratório.

Para isso foram desenvolvidos os seguintes trabalhos:

1. Criação de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) nos hospedeiros *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) e *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae);
2. Densidade de fêmeas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) por pupa de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae);
3. Progenie de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) de diferentes idades;
4. Parasitismo e desenvolvimento de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) em diferentes temperaturas.

Esta dissertação está de acordo com as normas da ABNT, com adaptações para as “Normas para Redação de Dissertações e Teses” da Universidade Federal da Grande Dourados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAZZOCCHI, G.G., LANZONI, A.; BURGIO, G.; FIACCONI, M.R. Effects of temperature and host on the pre-imaginal development of the parasitoid *Diglyphus isaea* (Hymenoptera: Eulophidae). **Biology Control**, v.26, p.74-82, 2003.
- BENNETT, F.D.; GLENN, H.; YASEEN, M.; BARANOWSKI, R.M. Records of *Trichospilus diatraeae*, an Asian parasite (Hymenoptera: Eulophidae) from the Caribbean and Florida. **Florida Entomologist**, v.70, p.184-186, 1987.
- BOTELHO, P.S.M.; PARRA, J.R.P.; MAGRINI, E.A.; HADDAD, M.L.; RESENDE, L.C.L. Efeito do número de liberações de *Trichogramma galloi* (Zucchi, 1998) no parasitismo de ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794). **Scientia Agricola**, v.52, p.65-69, 1995.
- BOTELHO, P.S.M.; PARRA, J.R.P.; CHAGAS NETO, J.F.; OLIVEIRA, C.P.B. Associação do parasitóide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e do parasitóide larval *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) no controle de *Diatraea saccharalis* (Fabri.) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.28, p.491-496, 1999.
- BOTELHO, P.S.M.; MACEDO, N. *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*. **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, p.143-161, 2002.
- BOUCEK, Z. The African and Asiatic species of *Trichospilus* and *Cotterellia* (Hymenoptera, Eulophidae). **Bulletin Entomological Research**, v.65, p.669-681, 1976.
- BOURNIER, J.P. Sur la reproduction parthénogénétique de *Trichospilus diatraeae* Cher. et Margab. (Hymenoptera: Chalcidoidea). **Bulletin de la Société Entomologique de France**, v.80, p.116-118, 1975.
- BROGLIO-MICHELETTI, S.M.; PEREIRA-BARROS, J.L.; SANTOS, A.J.N.; CARVALHOS, L.W.T.; OLIVEIRA, C.J.T. Efeito do número de adultos de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) liberados em semanas sucessivas, para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, p.53-58, 2007.
- CARNEIRO, T.R.; FERNANDES, O.A.; CRUZ, I. Influência da competição intraespecífica entre fêmeas e da ausência de hospedeiro no parasitismo de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) sobre ovos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.53, p.482-486, 2009.
- CHERIAN, M.C.; MARGABANDHU, V. A new species of *Trichospilus* (Hymenoptera: Chalcidoidea) from south India. **Indian Journal of Entomology**, v.4, p.101-102, 1942.

FÁVERO, K. **Biologia e técnicas de criação de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) e *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)**. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS. 63p. 2009.

GAUTHIER, N.; LASSALE, J.; QUICKE, D.L.J.; GODFRAY, H.C.J. Phylogeny of Eulophidae (Hymenoptera: Chalcidoidea), with a reclassification of Eulophinae and the recognition that Elasmidae are derived eulophids. **Systematic Entomology**, v.25, p.521-539, 2000.

GODFRAY, H.C.J. **Parasitoids, Behavioral and Evolutionary Ecology**, Princeton University Press, Princeton, NJ, USA, 473 p, 1994.

GRANCE, E.L.V. **Potencial de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar**. Dissertação (Mestrado em Entomologia) Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS. 67p. 2010.

GREISS, H.; PETKOV, N.; BOITCHEV, K.; PETKOV, Z. Study on improved technology for silk worm *Bombyx mori* L. rearing in Egypt. Commercial egg production. **Bulgarian Journal of Agriculture Science**, v.9 p.109-112, 2003.

HANSON, C. **Eulophidae of Costa Rica 2**. Memoirs of the American Entomology Institute, Gainesville, v.75, p.573, 2004.

MATOS NETO, F.C.; CRUZ, I.; ZANUNCIO, J.C.; SILVA, C.H.O.; PICANÇO, M.C. Parasitism by *Campoletis flavicincta* on *Spodoptera frugiperda* in corn. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.1077-1081, 2004.

NOYES, J.S. **Universal Chalcidoidea Database**. 2003. Disponível em: <<http://www.nhm.ac.uk/entomology/chalcidoids/index.html>>. Acesso em: 22 set. 2008.

OLIVEIRA, M.A.S.; JUNQUEIRA, N.T.V.; ICUMA, I.M.; ALVES, R.T.; OLIVEIRA, J.N.S.; ANDRADE, G.A. **Incidência de danos da broca do fruto da graviola no Distrito Federal**. Planaltina: Embrapa Cerrados, n.51, 2001. (Comunicado Técnico-Embrapa).

PARON, M. R. **Bioecologia de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Maragabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), endoparasitóide de Lepidoptera**. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior “Luis de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP. 53p.1999.

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

PASTORI, P.L. **Desenvolvimento e qualidade de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) utilizando hospedeiros alternativos**. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa- MG. 83p. 2010.

PEREIRA-BARROS, J.L.; BROGLIO-MICHELETTI, S.M.F.; SANTOS, A.J.N.; CARVALHO, L.W.T.; CARVALHO, L.H., OLIVEIRA, C. J.T. Aspectos biológicos de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) criados em ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). **Ciência agrotécnica**, v.29, p.714-718, 2005.

PEREIRA, F.F.; ZANUNCIO, J.C.; TAVARES, M.T.; PASTORI, P.L.; JACQUES, G.C. New Record of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) as a parasitoid of the eucalypt defoliator *Thyrintina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) in Brazil. **Phytoparasitica**, v.36, p.304-306, 2008.

PEREIRA, F.F.; ZANUNCIO, J.C.; SERRÃO, J.E.; PASTORI, P.L.; RAMALHO, F.S. Reproductive performance of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) with previously refrigerated pupae of *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). **Brazilian Journal of Biology**, v.69, p.631-637, 2009.

PINTO, A.S.; GARCIA, J.F.; BOTELHO, P.S.M. Controle biológico de pragas da cana-de-açúcar. In: PINTO, A. S.; NAVA, D.E.; ROSSI, M.M.; MALERBO-SOUZA, D.T. **Controle Biológico de pragas: na prática**. Piracicaba: CP2, p.65-74, 2006.

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

RODRIGUEZ-DEL-BOSQUE, L.A.; SMITH JUNIOR, J.W. Parasitization of *Diatraea lineolata* pupa and diapauzing larvae by several exotic parasites. **Florida Entomologist**, v.72, p.703-705, 1989.

RODRIGUES, S.M.M.; BUENO, V.H.P.; SAMPAIO, M.V.; SOGLIA, M.D. de. Influência da temperatura no desenvolvimento e parasitismo de *Lysiphebus testaceipes* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae) em *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**, v.33, p.341-346, 2004.

RODRIGUES, W.C. Fatores que influenciam no desenvolvimento dos insetos. **Info Insetos**. v. 1, p. 1-4, 2004.

RODRIGUES, M.A.T. **Exigências térmicas e hídricas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)**. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS. 52p. 2010.

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

SAMPAIO, M.V.; BUENO, V.H.P.; MALUF, R.P.; Parasitismo de *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Aphidiidae) em diferentes densidades de *Mysus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**, v.30, p.81-87, 2001.

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

UBAIDILLAH, R. Eulophine parasitoids of the genus *Trichospilus* in Indonesia, with the description of two new species (Hymenoptera: Eulophidae). **Entomological Science**, v.9, p.217-222, 2006.

URBANEJA, A.; LLÁCER, E.; GARRIDO, A.; JACAS, J.A. Effect of temperature on the life history of *Cirrospilus* sp. near *Lyncus* (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). **Biological Control**, v.21, p.293-299. 2001.

ZACARIN, G.G.; GOBBI, N.; CHAUD NETTO, J. Capacidade reprodutiva de fêmeas de *Apanteles galleriae* (Hymenoptera, Braconidae) em lagartas de *Galleria mellonella* e *Achroia grisella* (Lepidoptera, Pyralidae) criadas com dietas diferentes. **Iheringia, Série Zoologia**, v.94, p.139-147, 2004.

ZACHÉ, B.; WILCKEN, C.F.; DACOSTA, R.R.; SOLIMAN, E.P. *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), a new parasitoid of *Melanolophia consimilaria* (Lepidoptera: Geometridae). **Phytoparasitica**, v.38, p.355-357, 2010.

WANG-DUN; BAI-YAOYU; ZAHANG-CHUANXI. A review on the nutritive value of silk worm pupae and its exploitation. **Entomological Knowledge**, v.41, p 418-421, 2004.



## CAPÍTULO I

**Criação de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) nos  
hospedeiros *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) e *Diatraea  
saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)**

**Criação de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) nos hospedeiros *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) e *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)**

**Resumo:** *Trichospilus diatraeae* Cherian e Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitóide pupal preferencialmente de pupas de lepidópteros e o desenvolvimento de técnicas de criação de parasitóides para programas de controle biológico depende do hospedeiro alternativo adequado. Este trabalho teve como objetivo avaliar o desempenho reprodutivo de *T. diatraeae* sobre os hospedeiros *Bombyx mori* Linnaeus, 1758, (Lepidoptera: Bombycidae) e *Diatraea saccharalis* (Fabricius,1794) (Lepidoptera: Crambidae). Doze pupas de *B. mori* e de *D. saccharalis*, de 72 e 24 horas de idade respectivamente e foram expostas ao parasitismo por 21 fêmeas parasitóides. A duração do ciclo de vida (Ovo - Adulto) de *T. diatraeae* foi de  $19,44 \pm 0,12$  e  $18,00 \pm 0,05$  dias em pupas de *D. saccharalis* e *B. mori*, respectivamente, com 100% de parasitismo nos dois hospedeiros e 66,6 e 75% de emergência da progênie deste parasitóide em pupas de *D. saccharalis* e *B. mori* respectivamente. A progênie de *T. diatraeae* foi de  $354,50 \pm 43,21$  e  $469,11 \pm 15,19$  por pupa de *D. saccharalis* e *B. mori*, respectivamente. *T. diatraeae* apresenta bom desenvolvimento em pupas de *D. saccharalis* e de *B. mori* em laboratório.

**Palavras chaves:** desenvolvimento, endoparasitóide, controle biológico.

**Abstract:** *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) is a endoparasitoid pupal preferably of lepidopteran pupae and the development of techniques for the creation of parasitoids for programs of biological control depends on the alternative host appropriate. This work was carried out to evaluate the reproductive performance of *T. diatraeae* on hosts *Bombyx mori* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Bombycidae) and *Diatraea saccharalis* (Fabricius,1794) (Lepidoptera: Crambidae). Twelve pupae of *B. mori* and *D. saccharalis*, 72 and 24 hours of age respectively and were exposed to parasitism by 21 female parasitoids. The duration of the life cycle (egg - adult) of *T. diatraeae* was  $19.44 \pm 0.12$  and  $18.00 \pm 0.05$  days in pupae of *D. saccharalis* and *B. mori*, respectively, with 100% of parasitism in both hosts and 66.6 and 75% of emergency the progeny of this parasitoid in pupae of *D. saccharalis* and *B. mori* respectively. The progeny of *T. diatraeae* was  $354.50 \pm 43.21$  and  $469.11 \pm 15.19$  per pupa of *D. saccharalis* and *B. mori*, respectively. *T. diatraeae* presents good development in pupae of *D. saccharalis* and of *B. mori* in the laboratory.

**Key Words:** development, endoparasitoid, biological control.

## Introdução

O desenvolvimento de técnicas de criação de parasitóides para programas de controle biológico depende da escolha do hospedeiro alternativo adequado (PRATISSOLI et al., 2005) e do conhecimento do potencial da espécie sobre o hospedeiro a ser controlado (PASTORI et al., 2008).

Diversos estudos e técnicas de criação foram desenvolvidos com parasitóides de ovos e lagartas, dentre eles se destacam *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) que são utilizados com sucesso no controle de *D. saccharalis* (BOTELHO et al., 1995; BOTELHO et al., 1999; BOTELHO & MACEDO, 2002; PEREIRA-BARROS et al., 2005; PINTO et al., 2006; BROGLIO-MICHELETTI et al., 2007).

*Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) é um parasitóide de pupas preferencialmente da ordem Lepidoptera, (BOUCEK, 1976) e que tem sido estudado como agente potencial no controle biológico de pragas (PARON & BERTI-FILHO, 2000; FÁVERO, 2009; GRANCE, 2010; RODRIGUES, 2010).

Em laboratório, além de ser criado em seu hospedeiro natural, *T. diatraeae* pode ser criado em hospedeiros alternativos, como em pupas de *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae) (FÁVERO, 2009) e em pupas de *A. gemmatalis* (PASTORI, 2010).

Pupas de *Bombyx mori* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Bombycidae) apresentam alto valor protéico (WANG-DUN et al., 2004) e já foram indicadas como hospedeiro alternativo de *Palmistichus elaeisis* Delvare & La Salle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) (PEREIRA et al. 2009), por este motivo resolveu-se utilizar pupas de *B. mori* como hospedeiro alternativo de *T. diatraeae*.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho reprodutivo de *T. diatraeae* nos hospedeiros *B. mori* e *D. saccharalis*.

## Material e Métodos

### Local de condução dos experimentos

O experimento foi realizado no Laboratório de Entomologia/Controle Biológico da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados, Mato Grosso do Sul, com as seguintes etapas:

## **Criação do hospedeiro natural e alternativo e do parasitóide para montagem do experimento**

### **Criação de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)**

Foram utilizados insetos oriundos da criação do Laboratório de Entomologia/Controle Biológico da Faculdade de Ciências Agrárias da UFGD com a seguinte metodologia: Após a eclosão, as lagartas desse lepidóptero foram colocadas em potes telados com dieta artificial onde permaneceram até a formação de pupas. As pupas foram recolhidas, selecionadas para montagem do experimento e o restante colocadas em gaiolas de PVC (10 x 22cm) [50 adultos (20 machos e 30 fêmeas)] revestido com folhas de papel sulfite umedecido, servindo como substrato para oviposição. As gaiolas de PVC foram fechadas com tecido do tipo “voil” e elástico (PARRA, 2007).

### **Criação de *Bombyx mori***

Ovos de *B. mori* foram fornecidos pela Empresa Bratac®. Lagartas recém-eclodidas foram colocadas em bandejas plásticas (39,3 x 59,5x 7,0 cm) com folhas de amoreira (*Morus alba* L.) trocadas diariamente até a formação dos casulos. Esses, transferidos para bandejas plásticas (28,3 x 36,0 x 7,0cm) e acondicionadas em câmara climatizada à  $25 \pm 1^\circ$  C,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 12 horas (PEREIRA et al., 2009).

### **Criação de *Trichospilus diatraeae***

Adultos de *T. diatraeae* oriundos da criação do Laboratório de Entomologia/Controle Biológico da Faculdade de Ciências Agrárias da UFGD foram mantidos em tubos de vidro (2,5 x 8,5 cm) fechados com algodão e alimentados com gotículas de mel puro. Para manutenção da criação, pupas de *D. saccharalis* com 24 a 48 horas foram expostas ao parasitismo por 72 horas. Após esse período as pupas parasitadas foram individualizadas e mantidas à  $25 \pm 1^\circ$ C, umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas até a emergência de adultos (FÁVERO, 2009).

## **Desenvolvimento experimental**

Doze pupas de *D. saccharalis* e de *B. mori* com peso médio entre  $(0,160 \pm 0,01\text{mg})$  e  $(0,800 \pm 0,01\text{mg})$ , com idades de 24 e 72 horas, foram individualizadas em tubos de vidro (14 x 2,2cm) e expostas ao parasitismo por 21 fêmeas de *T. diatraeae* com 24 a 48 horas de idade. Pupa de *B. mori* apresenta tamanho e peso superior do que pupa de *D. saccharalis*, portanto, para garantir o desenvolvimento do parasitóide no interior do hospedeiro resolveu-se utilizar 21 fêmeas parasitóides por pupa, baseado no

trabalho de GRANCE (2010), onde avaliou a densidade de fêmeas de *T. diatraeae* em pupas de *D. saccharalis*, verificou-se que a densidade entre 14 a 21 fêmeas parasitoides por pupa é adequada para criação nesse hospedeiro em laboratório. As fêmeas do parasitóide foram retiradas dos tubos após 24 horas e as pupas mantidas em câmara climatizada à  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas até a emergência dos adultos parasitoides.

A duração do ciclo de vida (ovo-adulto); a porcentagem de parasitismo; a porcentagem de emergência de progênie; o número de parasitoides emergidos; a longevidade de machos e de fêmeas (alimentados com mel), a razão sexual (RS= número de fêmeas/ número de adultos) e o tamanho do corpo e da largura da cápsula cefálica de machos e de fêmeas (as medidas de tamanho foram realizadas com o auxílio de ocular micrométrica acoplada ao microscópio estereoscópico) foram avaliados. O sexo dos parasitoides foi determinado pelas características morfológicas da antena e abdome (PARON, 1999).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) com dois tratamentos representados por *T. diatraeae* criado em cada hospedeiro (*B. mori* e *D. saccharalis*), com 12 repetições, sendo cada uma representada por uma pupa hospedeira e 10 e 20 repeticoes constituídas por 10 machos e 20 fêmeas, escolhidos(as) nos descendentes de cada tratamento para longevidade e largura da cápsula cefálica de machos e de fêmeas, respectivamente.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e os modelos escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão utilizando o teste “t” de Student adotando o nível de 5% de probabilidade, no coeficiente de determinação ( $R^2 = \text{SQReg} / \text{SQTotal}$ ) e no fenômeno biológico estudado.

Os valores da porcentagem de parasitismo e de emergência de progênie foram submetidos à análise de modelos lineares generalizados com distribuição binomial ( $P \leq 0,05$ ) pelo R Statistical System (IHAKA & GENTLEMAN, 1996). Essa análise foi realizada com os dados originais que são não-paramétricos, mas esses foram expressos em porcentagem para facilitar a visualização.

### **Resultados**

O parasitismo de *T. diatraeae* em pupas de *B. mori* e de *D. saccharalis* foi de 100% ( $P < 0,01$ ), com emergência de 75% e 66,6% ( $P < 0,01$ ) para o primeiro e segundo hospedeiro, respectivamente (Figura 1). A duração do ciclo de vida de *T. diatraeae* não difere em pupas de *B. mori* ( $19,44 \pm 0,12$ ) que em *D. saccharalis* ( $18,00 \pm 0,05$ ) (Tabela

1). A progênie de *T. diatraeae* foi maior em pupas de *B. mori* ( $469,11 \pm 15,19$ ) que em *D. saccharalis* ( $354,50 \pm 43,21$ ) (Tabela 1). A razão sexual de *T. diatraeae* em pupas de *D. saccharalis* e de *B. mori* apresentou valores semelhantes ( $0,84 \pm 0,03$  e  $0,85 \pm 0,07$ ), respectivamente. A longevidade de fêmeas e de machos do parasitóide provenientes de pupas de *B. mori* ( $25,80 \pm 3,15$  e  $19,40 \pm 2,97$ ) não difrem que a apresentada por *T. diatraeae* emergidos de pupas de *D. saccharalis* ( $17,70 \pm 3,23$  e  $13,00 \pm 2,97$ ) (Tabela 1). O tamanho da cápsula cefálica de fêmeas e machos de *T. diatraeae* emergidos de pupas de *D. saccharalis* ( $0,38 \pm 0,03$  e  $0,31 \pm 0,04$ ) foi semelhante ao tamanho da cápsula cefálica de fêmeas e machos emergidos de pupas de *B. mori* ( $0,35 \pm 0,03$  e  $0,30 \pm 0,03$ ). O tamanho do corpo de fêmeas e machos de *T. diatraeae* foi semelhante entre indivíduos emergidos de pupas de *D. saccharalis* ( $1,06 \pm 0,08$  e  $0,971 \pm 0,05$ ) e de *B. mori* ( $1,09 \pm 0,09$  e  $0,978 \pm 0,05$ ).

### Discussão

O parasitismo de *T. diatraeae* em pupas de *B. mori* e de *D. saccharalis* demonstra capacidade do parasitóide em aceitar e se adequar a diferentes hospedeiros. Resultados semelhantes foram relatados para *T. diatraeae* em pupas de *T. molitor* e *D. saccharalis* (FÁVERO, 2009), *Anticarsia gemmatalis* Hubner, 1818, *Spodoptera frugiperda* Smith, 1797 e *Heliothis virescens* (Fabricius, 1781) (Lepidoptera: Noctuidae) (PARON & BERTI FILHO, 2000).

O índice de emergência da progênie em pupas de *B. mori* foi maior do que em pupas de *D. saccharalis* e isso pode estar relacionado com a capacidade de suporte e disponibilidade de recurso alimentar do hospedeiro para o parasitóide uma vez que pupas de *B. mori* são maiores que pupas de *D. saccharalis* ou quando o recurso é finito e não renovável, como no caso de ovos, lagartas e pupas, a fêmea deposita ovos férteis de acordo com a quantidade de recurso (PANNIZI & PARRA, 1991). Esses fatos justificam também a maior progênie de *T. diatraeae* em pupas de *B. mori* do que em pupas de *D. saccharalis*. Além disso, a produção de progênie depende do grau de competição entre irmãos em desenvolvimento dentro de um hospedeiro compartilhado (RIDDICK, 2008). A progênie pode variar conforme a espécie hospedeira, como ocorreu com *T. diatraeae* emergidos de pupas de *Spodoptera frugiperda* Smith, 1797, *Anticarsia gemmatalis* Hubner, 1818, *D. saccharalis* e *Heliothis virescens* (Fabricius, 1781) (PARON & BERTI FILHO, 2000) e em *T. molitor* (FÁVERO, 2009).

O ciclo de vida (ovo-adulto) de *T. diatraeae* foi semelhante para os dois hospedeiros, o que demonstra que o hospedeiro alternativo é de qualidade e não irá

interferir no período de desenvolvimento do parasitóide, pois apresentou duração semelhante quando o mesmo foi criado no hospedeiro natural. A duração do ciclo de vida de um parasitóide depende de vários fatores, dentre eles a espécie hospedeira (ZAGO et al., 2006).

A razão sexual de *T. diatraeae* em pupas de *D. saccharalis* e *B. mori* apresentou valores semelhantes e elevados o que demonstra a adequabilidade do hospedeiro alternativo para criação do parasitóide. Fêmeas parasitóides são as principais responsáveis pelo parasitismo e pela produção de descendentes (MATOS NETO et al., 2004). E a obtenção de um elevado número de fêmeas na progênie é importante para sistemas de criação massal, experimentos de laboratórios e seleção de indivíduos para liberação no campo (AMALIN et al., 2005).

O tamanho da cápsula cefálica e do corpo de fêmeas e machos de *T. diatraeae* emergidos nos dois hospedeiros foi semelhante ao observado quando criados em pupas de *A. gemmatilis* (PASTORI, 2010) e de *D. saccharalis* (GRANCE, 2010).

Pupas de *B. mori* são adequadas para criação massal de *T. diatraeae*, por apresentar um desenvolvimento reprodutivo satisfatório (parasitismo, emergência, progênie por pupa, razão sexual, longevidade de fêmeas e machos).

### **Conclusão**

*T. diatraeae* apresentou desenvolvimento reprodutivo satisfatório em pupas de *B. mori* o que demonstra a adequabilidade do hospedeiro e a capacidade do parasitóide de parasitar e adequar-se a diferentes hospedeiros.

### **Agradecimentos**

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de estudo.

### **Referências Bibliográficas**

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

BOTELHO, P.S.M.; PARRA, J.R.P.; MAGRINI, E.A.; HADDAD, M.L.; RESENDE, L.C.L. Efeito do número de liberações de *Trichogramma galloi* (Zucchi, 1998) no parasitismo de ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794). **Scientia Agricola**, v.52, p.65-69, 1995.

BOTELHO, P.S.M.; PARRA, J.R.P.; CHAGAS NETO, J.F.; OLIVEIRA, C.P.B. Associação do parasitóide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e do parasitóide larval *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) no controle de *Diatraea saccharalis* (Fabri.) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.28, p.491-496, 1999.

BOTELHO, P.S.M.; MACEDO, N. *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*. **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, p.143-161, 2002.

BOUCEK, Z. The African and Asiatic species of *Trichospilus* and *Cotterellia* (Hymenoptera, Eulophidae). **Bulletin Entomological Research**, v.65, p.669-681, 1976.

BROGLIO-MICHELETTI, S.M.; PEREIRA-BARROS, J.L.; SANTOS, A.J.N.; CARVALHOS, L.W.T.; OLIVEIRA, C.J.T. Efeito do número de adultos de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) liberados em semanas sucessivas, para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, p.53-58, 2007.

FÁVERO, K. **Biologia e técnicas de criação de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) e *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)**. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS. 63p. 2009.

GRANCE, E.L.V. **Potencial de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar**. Dissertação (Mestrado em Entomologia) Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS. 67p. 2010.

IHAKA, R.; GENTLEMAN, R. A language for data analysis and graphics. **Journal of Computational and Graphical Statistics**, v.5, p.299-314, 1996.

MATOS NETO, F.C.; CRUZ, I.; ZANUNCIO, J.C.; SILVA, C.H.O.; PIKANÇO, M.C. Parasitism by *Campoletis flavicincta* on *Spodoptera frugiperda* in corn. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.1077-1081, 2004.

PANIZZI, A.R.; PARRA, J.R.P. **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. Editora Manole, Brasília: CNPq, 359p. 1991.

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

PARON, M. R. **Bioecologia de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Maragabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), endoparasitóide de Lepidoptera**. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior “Luis de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP. 53p.1999.

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



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

PASTORI, P.L. **Desenvolvimento e qualidade de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) utilizando hospedeiros alternativos**. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa- MG. 83p. 2010.

PEREIRA-BARROS, J.L.; BROGLIO-MICHELETTI, S.M.F.; SANTOS, A.J.N.; CARVALHO, L.W.T.; CARVALHO, L.H., OLIVEIRA, C. J.T. Aspectos biológicos de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) criados em ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). **Ciência agrotécnica**, v.29, p.714-718, 2005.

PEREIRA, F.F.; ZANUNCIO, J.C.; SERÃO, J.E.; PASTORI, P.L.; RAMALHO, F.S. Reproductive performance of *Palmistichus elaeisis* Delvare e La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) with previously refrigerated pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). **Brazilian Journal of Biology**, v.69, p.631-637, 2009.

PINTO, A.S.; GARCIA, J.F.; BOTELHO, P.S.M. Controle biológico de pragas da cana-de-açúcar. In: PINTO, A. S.; NAVA, D.E.; ROSSI, M.M.; MALERBO-SOUZA, D.T. **Controle Biológico de pragas: na prática**. Piracicaba: CP2, p.65-74, 2006.

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

RIDDICK, E.W. Sting frequency and progeny production of lab-cultured *Cotesia marginiventris*. **Biological Control**, v.53, p.295-302, 2008.

RODRIGUES, M.A.T. **Exigências térmicas e hídricas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)**. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS. 52p. 2010.

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

WANG-DUN; BAI-YAOYU; ZAHANG-CHUANXI. A review on the nutritive value of silk worm pupae and its exploitation. **Entomological Knowledge**, v.41, p.418-421, 2004.

Tabela 1: Média ( $\pm$  EP)<sup>1</sup> das características biológicas de *Trichospilus diatraeae* em pupas de *Bombyx mori* e de *Diatraea saccharalis*, em laboratório a temperatura de  $25\pm 2^\circ$ ,  $70\pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 horas (n= Número de repetições).

Características biológicas	<i>Bombyx mori</i>	n	<i>Diatraea saccharalis</i>	n
Duração do ciclo de vida (dias)	$19,44 \pm 0,09$ a <sup>2</sup>	09	$18,00 \pm 0,05$ a <sup>2</sup>	08
Progênie por pupa	$469,11 \pm 15,19$ a	09	$354,50 \pm 41,88$ b	08
Cápsula cefálica do macho (mm)	$0,30 \pm 0,03$ a	10	$0,31 \pm 0,04$ a	10
Cápsula cefálica da fêmea (mm)	$0,35 \pm 0,03$ a	20	$0,38 \pm 0,03$ a	20
Tamanho do corpo da fêmea (mm)	$1,09 \pm 0,09$ a	20	$1,06 \pm 0,08$ a	20
Tamanho do corpo do macho (mm)	$0,978 \pm 0,05$ a	10	$0,971 \pm 0,05$ a	10
Longevidade da Fêmea (dias)	$25,80 \pm 3,15$ a	20	$17,70 \pm 3,23$ a	20
Longevidade do Macho (dias)	$19,40 \pm 2,97$ a	10	$13,00 \pm 2,97$ a	10
Razão sexual	$0,85 \pm 0,07$ a	09	$0,84 \pm 0,03$ a	08

<sup>1</sup>Erro padrão (EP).

<sup>2</sup>Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha não diferem entre si, pelo teste F.

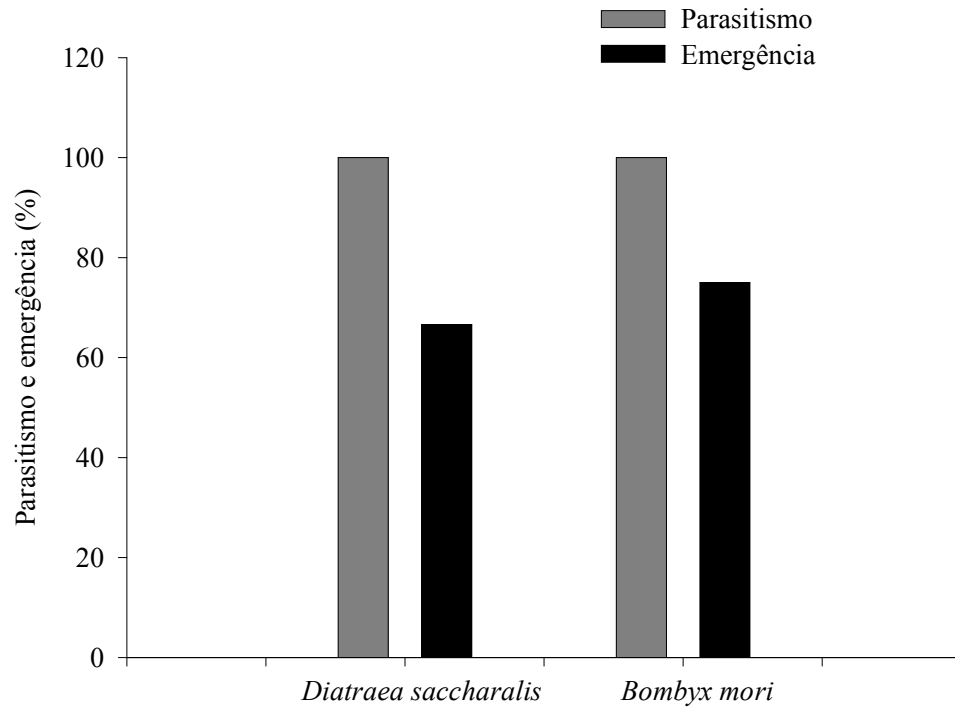


Figura 1 – Porcentagem de parasitismo e de emergência de *Trichospilus diatraeae* sobre pupas de *Diatraea saccharalis* e pupas de *Bombyx mori* a temperatura de  $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 horas. Parasitismo ( $P < 0,01$ ) Emergência ( $P < 0,01$ ).

## **CAPÍTULO II**

**Densidade de fêmeas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) por pupa de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae)**

## Densidade de fêmeas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) por pupa de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae)

**Resumo:** O parasitóide de pupas *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) tem sido estudado como um agente potencial no controle biológico de pragas em diversas culturas de importância agrícola e florestal. O objetivo desse trabalho foi determinar o número de fêmeas de *T. diatraeae* por pupa de *Bombyx mori* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Bombycidae) para criação em massa desse parasitóide em laboratório. pupas de *B. mori* com 72 horas de idade foram expostas ao parasitismo por fêmeas de *T. diatraeae* com 24 a 48 horas de idade, por 24 horas nas relações parasitóide-hospedeiro 1:1, 14:1, 28:1, 56:1, 112:1 ou 224:1, respectivamente, com 12 repetições para cada tratamento. A porcentagem de parasitismo de *T. diatraeae* em pupas de *B. mori* foi de 84% e 95% para as densidades 1:1 e 56:1, respectivamente e de 100% para as demais. A porcentagem de emergência de progênie variou de 12% a 84% nas densidades estudadas. A duração do ciclo de *T. diatraeae* foi de  $24,20 \pm 2,49$  dias e de  $20,00 \pm 0,00$  dias nas densidades de 1:1 e 224:1, respectivamente. A progênie por pupa variou de  $37,60 \pm 41,00$  a  $461,00 \pm 0,00$  descendentes por pupa, nas densidades de 1:1 e 224:1, respectivamente. A densidade de 28 fêmeas de *T. diatraeae* por pupa de *B. mori* foi a mais adequada para criação desse parasitóide em laboratório.

**Palavras-chave:** criação massal, hospedeiro alternativo, controle biológico.

**Abstract:** The parasitoid pupae *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) has been studied as a potential agent for biological control of pests in various cultures of importance agriculture and forestry. The objective of this study was to determine the number of females of *T. diatraeae* by pupa of *Bombyx mori* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Bombycidae) for creation in mass of parasitoid in the laboratory. Pupae of *B. mori* with 72 hours of age were exposed to parasitism by females of *T. diatraeae* (with 24 to 48 hours old) for 24 hours in relations parasitoid-host 1:1, 14:1, 28:1, 56:1, 112:1 or 224:1, respectively, with 12 repetitions for each treatment. The percentage of parasitism of *T. diatraeae* in pupae of *B. mori* was 84% and 95% for the densities 1:1 and 56:1, respectively, of 100% for the other. The percentage of emergence of progeny ranged from 12% to 84% in densities studied. The duration of the cycle of *T. diatraeae* was  $24.20 \pm 2.49$  days and  $20.00 \pm 0.00$  days at densities of 1:1 and 224:1, respectively. The progeny of pupae ranged from  $37.60 \pm 41.00$  to  $461.00 \pm 0.00$  offspring per pupa, in densities of 1:1 and 224:1, respectively. The density of 28 females of *T. diatraeae* by pupa of *B. mori* was the most suitable for the creation of this parasitoid in the laboratory.

**Key Words:** mass rearing, alternative host, biological control.

## Introdução

A densidade de fêmeas parasitóides por hospedeiro interfere na produção da progênie (SAGARRA et al., 2000; MATOS NETO et al., 2004; PEREIRA et al., 2010), na razão sexual (ZACARIN et al., 2004; CARNEIRO et al., 2009; PEREIRA et al., 2010), no tempo de desenvolvimento e na longevidade dos parasitóides (SILVA-TORRES & MATTHEWS, 2003; PEREIRA et al., 2010).

A capacidade reprodutiva de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) foi avaliada em pupas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818, *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) e *Heliothis virescens* Fabricius, 1781 (Lepidoptera: Noctuidae), porém, apenas uma pupa foi exposta à fêmea do parasitóide (PARON & BERTI FILHO, 2000).

Pupas de *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae) são adequadas ao desenvolvimento de *T. diatraeae* e podem ser utilizadas para a criação deste parasitóide, na densidade de 27 fêmeas parasitóides por pupa. (FÁVERO, 2009).

O desenvolvimento de técnicas de criação de parasitóides para programas de controle biológico depende da escolha do hospedeiro alternativo adequado (PRATISSOLI et al., 2005).

Pupas de *Bombyx mori* Linnaeus, 1758, (Lepidoptera: Bombycidae) apresenta alto valor protéico (WANG-DUN et al., 2004) e são hospedeiros para *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) sendo uma alternativa para criação de endoparasitóides de pupas (PEREIRA et al., 2009).

*T. diatraeae* possui hábito gregário, para isso torna-se necessário determinar a densidade ideal de fêmeas desse parasitóide por pupa de *B. mori*, em laboratório, para se aumentar a produção de seus descendentes. O objetivo desse trabalho foi determinar a densidade ideal de fêmeas de *T. diatraeae* por pupa de *B. mori*, para criação em larga escala desse parasitóide em laboratório.

## Material e Métodos

### Local de condução dos experimentos

O experimento foi realizado no Laboratório de Entomologia/Controle Biológico da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados, Mato Grosso do Sul, com as seguintes etapas:

## **Criação do hospedeiro alternativo e do parasitóide para montagem do experimento**

### **Criação de *Bombyx mori***

Ovos de *B. mori* foram fornecidos pela Empresa Bratac®. Lagartas recém-eclodidas foram colocadas em bandejas plásticas (39,3 x 59,5 x 7,0 cm) com folhas de amoreira (*Morus Alba* L.) trocadas diariamente até a formação dos casulos. Esses, transferidos para bandejas plásticas (28,3 x 36,0 x 7,0cm) e acondicionadas em câmara climatizada à  $25 \pm 1^\circ \text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 12 horas (PEREIRA et al., 2009).

### **Criação de *Trichospilus diatraeae***

Adultos de *T. diatraeae* oriundos da criação do Laboratório de Entomologia/Controle Biológico da Faculdade de Ciências Agrárias da UFGD foram mantidos em tubos de vidro (2,5 x 8,5 cm) fechados com algodão e alimentados com gotículas de mel puro. Para manutenção da criação, pupas de *D. saccharalis* com 24 a 48 horas foram expostas ao parasitismo por 72 horas. Após esse período as pupas parasitadas foram individualizadas e mantidas à  $25 \pm 1^\circ \text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas até a emergência de adultos (FÁVERO, 2009).

### **Desenvolvimento experimental**

Os tratamentos foram representados pela densidade de 1, 14, 28, 56 ou 224 fêmeas de *T. diatraeae* com 24 a 48 horas de idade por pupa de *B. mori* com peso entre 0,700 mg a 1,0 gr e 72 horas de idade. As fêmeas do parasitóide foram retiradas dos tubos após 24 horas de parasitismo e as pupas hospedeiras foram mantidas em câmara climatizada à  $25^\circ \pm 1^\circ \text{C}$  umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas até a emergência dos adultos parasitóides.

A duração do ciclo de vida (ovo-adulto); a porcentagem de parasitismo; a porcentagem de emergência de progênie; o número de parasitoides emergidos; a longevidade de machos e de fêmeas (alimentados com mel), a razão sexual (RS= número de fêmeas/ número de adultos) e o tamanho do corpo e da largura da cápsula cefálica de machos e de fêmeas (as medidas de tamanho foram realizadas com o auxílio de ocular micrométrica acoplada ao microscópio estereoscópico) foram avaliados. O sexo dos parasitóides foi determinado pelas características morfológicas da antena e abdome (PARON, 1999).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) para cada tratamento representado por *T. diatraeae* criado em *B. mori* nas densidades 1, 14, 28,

56, 112 ou 224 fêmeas parasitóides, com 12 repetições e 10 e 20 repetições constituídas por 10 machos e 20 fêmeas, escolhidos(as) nos descendentes de cada tratamento para longevidade, tamanho do corpo e largura da cápsula cefálica de machos e de fêmeas, respectivamente.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e os modelos escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão utilizando o teste “t” de Student adotando o nível de 5% de probabilidade, no coeficiente de determinação ( $R^2 = \text{SQReg} / \text{SQTotal}$ ) e no fenômeno biológico estudado.

Os valores da porcentagem de parasitismo e de emergência de progênie foram submetidos à análise de modelos lineares generalizados com distribuição binomial ( $P \leq 0,05$ ) pelo R Statistical System (IHAKA & GENTLEMAN, 1996). Essa análise foi realizada com os dados originais que são não-paramétricos, mas esses foram expressos em porcentagem para facilitar a visualização.

### Resultados

A porcentagem de parasitismo de *T. diatraeae* em pupas de *B. mori* foi de 84% e 95% para as densidades 1:1 e 56:1, respectivamente e de 100% para as demais. A porcentagem de emergência de progênie variou de 12% a 84% (Figura 1). A duração do ciclo (ovo-adulto) de *T. diatraeae* em pupas de *B. mori* ( $F=8,753$ ;  $P=0,0013$ ;  $R^2_{\text{Trat}}=0,7322$ ) variou de  $24,20 \pm 2,49$  dias na densidade de 1:1 e de  $20,00 \pm 0,00$  dias na densidade de 224:1. A progênie produzida por pupa de *B. mori* ( $F=26,772$ ;  $P=0,0002$ ;  $R^2_{\text{Trat}}=0,8932$ ) foi influenciada pela densidade de *T. diatraeae*, variando com médias de  $37,60 \pm 0,04$  a  $461,00 \pm 0,00$  descendentes por pupa, nas densidades de 1:1 e 224:1, respectivamente (Figura 2).

A razão sexual de *T. diatraeae* foi semelhante nas diferentes densidades testadas com médias de  $0,87 \pm 0,08$  a  $0,90 \pm 0,00$ . A longevidade de fêmeas do parasitóide decresceu com o aumento da densidade ( $F=9,054$ ;  $P=0,0046$ ;  $R^2_{\text{Trat}}=0,1986$ ) (Figura 3). A longevidade de machos do parasitóide foram semelhantes com o aumento da densidade ( $F=13,197$ ;  $P < 0,0001$ ;  $R^2_{\text{Trat}}=0,4845$ ), com médias de  $12,90 \pm 1,37$  na densidade 1:1 a  $9,60 \pm 7,41$  dias na densidade 224:1.

A largura da cápsula cefálica e o tamanho do corpo dos adultos desse parasitóide foram diferentes entre os tratamentos. A largura da cápsula cefálica de fêmeas ( $F=97,044$ ;  $P=0,0001$ ;  $R^2_{\text{Trat}}=0,6062$ ) (Figura 4) e machos ( $F=3,546$ ;  $P=0,0299$ ;  $R^2_{\text{Trat}}=0,1735$ ) de *T. diatraeae* variou de  $0,537 \pm 0,052$  mm a  $0,347 \pm 0,037$  mm e  $0,357 \pm 0,058$  mm a  $0,285 \pm 0,047$  mm, nas densidades 1:1 a 224:1, o tamanho do corpo das



fêmeas ( $F=291,187$ ;  $P= 0,0001$ ;  $R^2_{\text{Trat}}= 0,6024$ ) e machos ( $F=146,272$ ;  $P= 0,0001$ ;  $R^2_{\text{Trat}}= 0,7796$ ) de *T. diatraeae* variou de  $1,637 \pm 0,091$  mm a  $1,023 \pm 0,058$  mm e  $1,585 \pm 0,056$  mm a  $0,928 \pm 0,082$  mm, nas densidades 1:1 a 224:1 parasitóide-hospedeiro, respectivamente.

### Discussão

As porcentagens de parasitismo e emergência de *T. diatraeae* em pupas de *B. mori* foram influenciadas pelas densidades de fêmeas do parasitóide. Um hospedeiro apresenta defesa celular e reações que envolvem o encapsulamento e melanização do ovo do endoparasitóide (PENNACCHIO & STRAND, 2006), com isso os ovos de *T. diatraeae* podem ser mortos ao serem envolvidos por cápsulas de hemócitos produzido pela pupa, caso a densidade de fêmeas desse parasitóide por pupa hospedeira seja insuficiente para suprimir essa resposta imunológica. Outro fator que pode interferir é o excesso de toxinas liberados por várias fêmeas parasitóides durante o parasitismo (STRAND & PECH, 1995). A injeção de toxinas pelas fêmeas parasitóides induz paralisia no hospedeiro inibindo a resposta imunológica do mesmo (PENNACCHIO & STRAND, 2006), esse fato justifica também a variação na porcentagem de parasitismo, provavelmente a quantidade de ovos ou toxinas liberadas pelas fêmeas parasitóides não foram o suficiente para neutralizar a ação imunológica do hospedeiro, nas densidades menores.

Dados semelhantes foram obtidos por *P. elaeisis*, em pupas de *B. mori*, expostas ao parasitismo nas densidades de 1:1, 9:1, 18:1, 27:1, 36:1, 45:1, 54:1, parasitóide-hospedeiro, respectivamente, onde a emergência de parasitóides foi observada apenas a partir da densidade 18:1, e o maior número de descendentes de *P. elaeisis* por pupa de *B. mori* foi obtido na densidade de 45:1, que segundo o autor foi o número suficiente para neutralizar a atuação dos mecanismos de defesa desse hospedeiro. No entanto, o aumento da densidade desse parasitóide para 54:1 reduziu a progênie por pupa de *B. mori* devido ao superparasitismo (PEREIRA et al., 2010). Foi observado também a diminuição no parasitismo e emergência da prole de *Anagyrus kamali moursi* (Green, 1948) (Hymenoptera: Encyrtidae) parasitando *Maconellicoccus hirsutus* (Green, 1908) (Hemiptera: Pseudococcidae) com o aumento da densidade de fêmeas parasitóides (SAGARRA et al., 2000).

O aumento da densidade de *T. diatraeae* em pupas de *B. mori* causou decréscimo na duração do ciclo de vida (ovo-adulto) deste parasitóide, indicando que a disponibilidade de recurso alimentar pode afetar seu ciclo de vida, pois nas menores

densidades o período do ciclo foi maior. Esse fato pode estar relacionado à baixa competição entre os indivíduos, pois existe grande quantidade de alimento devido ao tamanho das pupas de *B. mori*. A redução do tempo de desenvolvimento de parasitóides em seus hospedeiros pode ser atribuída à competição dos imaturos por nutrientes (GODFRAY, 1994). O período de desenvolvimento dos imaturos de *T. diatraeae* em pupas de *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae), também, diminuiu com o aumento da densidade do parasitóide (FÁVERO, 2009). Isto corrobora também, com o estudo de diferentes densidades de *T. diatraeae* em pupas de *D. saccharalis* (GRANCE, 2010), em *P. elaiesis* em pupas de *B. mori* (PEREIRA et al., 2010) e em *Melittobia digitata* Danhms, 1984 (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Neobellieria bullata* Parker, 1916 (Diptera: Sarcophagidae) (SILVA-TORRES & MATTHEWS, 2003).

A progênie de *T. diatraeae* produzida por pupa de *B. mori* foi afetada pela densidade de fêmeas parasitóides. O número de indivíduos de *T. diatraeae* produzidos por pupa foi maior na densidade 28:1. Provavelmente, 28 fêmeas desse parasitoide foram suficientes para neutralizar a atuação dos mecanismos de defesa do hospedeiro. O melhor desempenho de insetos gregários é obtido em uma faixa de densidade particular, ocorrendo declínio acima ou abaixo deste intervalo, devido à indução de condições micro-ambientais não favoráveis ao desenvolvimento destes insetos (SLANSKY & SCRIBER, 1985).

A progênie varia conforme a espécie hospedeira, como ocorreu com *T. diatraeae* emergidos de pupas de *Spodoptera frugiperda* Smith, 1797, *Anticarsia gemmatilis* Hubner, 1818, *D. saccharalis* e *Heliothis virescens* (Fabricius, 1781) (PARON & BERTI FILHO, 2000) e em *T. molitor* (FÁVERO, 2009). Isso pode estar relacionado com a capacidade de suporte do hospedeiro (GRANCE, 2010).

A razão sexual foi semelhante nos tratamentos testados. A produção de fêmeas é importante, pois fêmeas de parasitóides são responsáveis pelo parasitismo e produção de progênie (PEREIRA et al., 2009). Em *T. diatraeae* a proporção de machos é muito baixa em relação a fêmeas, porém esse fato não interfere no potencial de fecundação (BOUNIER, 1975).

A longevidade dos adultos de *T. diatraeae* diferiu com o aumento da densidade. Isso é importante, pois as fêmeas são responsáveis pelo parasitismo. Em criações massais de parasitóides, a capacidade de sobrevivência é um dos requisitos para o controle de qualidade (CARNEIRO et al., 2009). Maior longevidade representa uma

característica favorável à espécie, pois confere as fêmeas parasitóides maior tempo de busca por hospedeiros no campo, em condições de escassez dos mesmos (FOERSTER et al., 1999).

A largura da cápsula cefálica e o tamanho do corpo de fêmeas e machos de *T. diatraeae* foram afetados pela densidade, sendo maiores quando se utilizou menores densidades de fêmeas por pupa. Fêmeas parasitóides maiores têm maior potencial reprodutivo do que fêmeas menores (HOHMANN & LUCK, 2004) e podem viver por mais tempo sem alimento (ELLERS et al., 1998), o mesmo pode ocorrer com machos maiores, tendo um maior tempo de vida e com isso um maior sucesso no acasalamento (SAGARRA et al., 2001). O tamanho do corpo de machos e de fêmeas adultos de *Anagyrus sp. nov. sinope* Noyes & Menezes (Hymenoptera: Encyrtidae) desenvolvidos em *Phenacoccus madeirensis* Green, 1923 (Hemiptera: Pseudococcidae) foram reduzidos com um aumento na descendência, diminuindo, assim, a aptidão reprodutiva dos descendentes (CHONG & OETTING, 2007).

Os resultados apresentaram que uma fêmea de *T. diatraeae* por pupa consegue parasitar, porém a densidade de 28 fêmeas por pupa foi a mais adequada. Nessa densidade, *T. diatraeae* apresentou as melhores características biológicas (maior número de progênie).

### Conclusão

*Trichospilus diatraeae* desenvolve-se em pupas de *B. mori* em todas as densidades testadas.

A densidade de 28 fêmeas de *T. diatraeae* para pupas de *B. mori* proporcionou maior produção de descendentes desse parasitóide em condições de laboratório.

### Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de estudo.

### Referências Bibliográficas

BOURNIER, J.P. Sur la reproduction parthénogénétique de *Trichospilus diatraeae* Cher. et Margab. (Hymenoptera: Chalcidoidea). **Bulletin de la Société Entomologique de France**, v.80, p.116-118, 1975.

CARNEIRO, T.R.; FERNANDES, O.A.; CRUZ, I. Influência da competição intraespecífica entre fêmeas e da ausência de hospedeiro no parasitismo de *Telenomus*

*remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) sobre ovos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.53, p.482-486, 2009.

CHONG, J.H.; OETTING, R.D. Progeny fitness of the mealybug parasitoid *Anagyrus* sp. nov. nr. *sinope* (Hymenoptera: Encyrtidae) as affected by brood size, sex ratio, and host quality. **Florida Entomologist**, v.90, p.656-664, 2007.

ELLERS, J.; VAN ALPHEN, J.J.M.; SEVENSTER, J.G. A field study of size-fitness relationships in the parasitoid *Asobara tabida*. **Journal of Animal Ecology**, v.67, p.318-324, 1998.

FÁVERO, K. **Biologia e técnicas de criação de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) e *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)**. 2009. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS. 63p. 2009.

FOERSTER, L.A.; DOETZER, A.K.; AVANCI, M.R.F. Capacidade reprodutiva e longevidade de *Glyptapanteles muesebecki* (Blanchard) (Hymenoptera: Braconidae) parasitando lagartas de *Pseudaletia sequax* Franclemont (Lepidoptera: Noctuidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.28, p.485-490, 1999.

GODFRAY, H.C.J. **Parasitoids, Behavioral and Evolutionary Ecology**, Princeton University Press, Princeton, NJ, USA, 473 p. 1994.

GRANCE, E.L.V. **Potencial de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar**. Dissertação (Mestrado em Entomologia) Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS. 67p. 2010.

HOHMANN, C.L.; LUCK, R.F. Effect of host availability and egg load in *Trichogramma platneri* Nagarkatti (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and its consequences on progeny quality. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.47, p.413-422, 2004.

IHAKA, R.; GENTLEMAN, R. A language for data analysis and graphics. **Journal of Computational and Graphical Statistics**, v.5, p.299-314, 1996.

MATOS NETO, F.C.; CRUZ, I.; ZANUNCIO, J.C.; SILVA, C.H.O.; PIKANÇO, M.C. Parasitism by *Campoletis flavicincta* on *Spodoptera frugiperda* in corn. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.1077-1081, 2004.

PARON, M. R. **Bioecologia de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Maragabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), endoparasitóide de Lepidoptera**. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior “Luis de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP. 53p.1999.

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

PENNACCHIO, F.; STRAND, M.R. Evolution of developmental strategies in parasitic hymenoptera. **Annual Review of Entomology**, v.51, p.233-258, 2006.

PEREIRA, F.F.; ZANUNCIO, J.C.; TAVARES, M.T.; PASTORI, P.L.; JACQUES, G.C. New Record of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) as a parasitoid of the eucalypt defoliator *Thyrinteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) in Brazil. **Phytoparasitica**, v.36, p.304-306, 2008.

PEREIRA, F.F.; ZANUNCIO, J.C.; SERÃO, J.E.; PASTORI, P.L.; RAMALHO, F.S. Reproductive performance of *Palmistichus elaeisis* Delvare e La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) with previously refrigerated pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). **Brazilian Journal of Biology**, v.69, p.631-637, 2009.

PEREIRA, F.P.; ZANUNCIO, J.C.; SERRÃO, J.E.; ZANUNCIO, T.V.; PRATISSOLI, D.; PASTORI, P.L. The density of females of *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.2, p. 1-9, 2010.

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

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

SAGARRA, L.A.; VICENT, C.; STEWART, R.K. Body size as an indicator of parasitoid quality in male and female *Anagyrus kamali* (Hymenoptera: Encyrtidae). **Bulletin of Entomological Research**, v.91, p.363-367, 2001.

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

SLANSKY, J.R.F. & SCRIBER, M. Food consumption and utilization. In. **Comprehensive Inss Physiol, Biochem Pharm.** 162p. 1985.

STRAND, M.R.; PECH, L.L. Immunological basis for compatibility in parasitoid-host relationships. **Annual Review of Entomology**, v.40, p.31-56, 1995.

ZACARIN, G.G.; GOBBI, N.; CHAUD NETTO, J. Capacidade reprodutiva de fêmeas de *Apanteles galleriae* (Hymenoptera, Braconidae) em lagartas de *Galleria mellonella* e *Achroia grisella* (Lepidoptera, Pyralidae) criadas com dietas diferentes. **Iheringia, Série Zoologia**, v.94, p.139-147, 2004.

WANG-DUN; BAI-YAOYU; ZAHANG-CHUANXI. A review on the nutritive value of silk worm pupae and its exploitation. **Entomological Knowledge**, v.41, p.418-421, 2004.

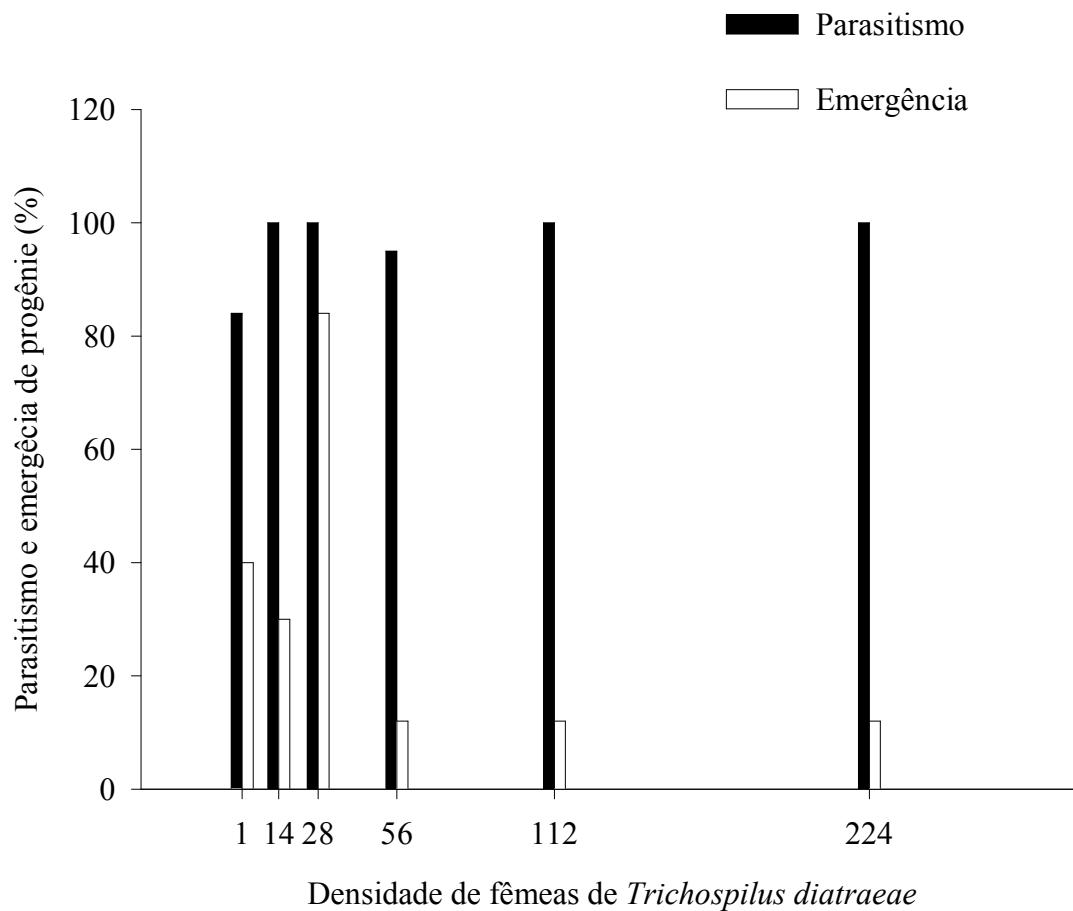


Figura 1 – Porcentagem de parasitismo e de emergência de *Trichospilus diatraeae* com 1, 14, 28, 56, 112 ou 224 fêmeas por pupa de *Bombyx mori* a temperatura de  $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 horas. Parasitismo (P=0,013) Emergência (P=0,031).

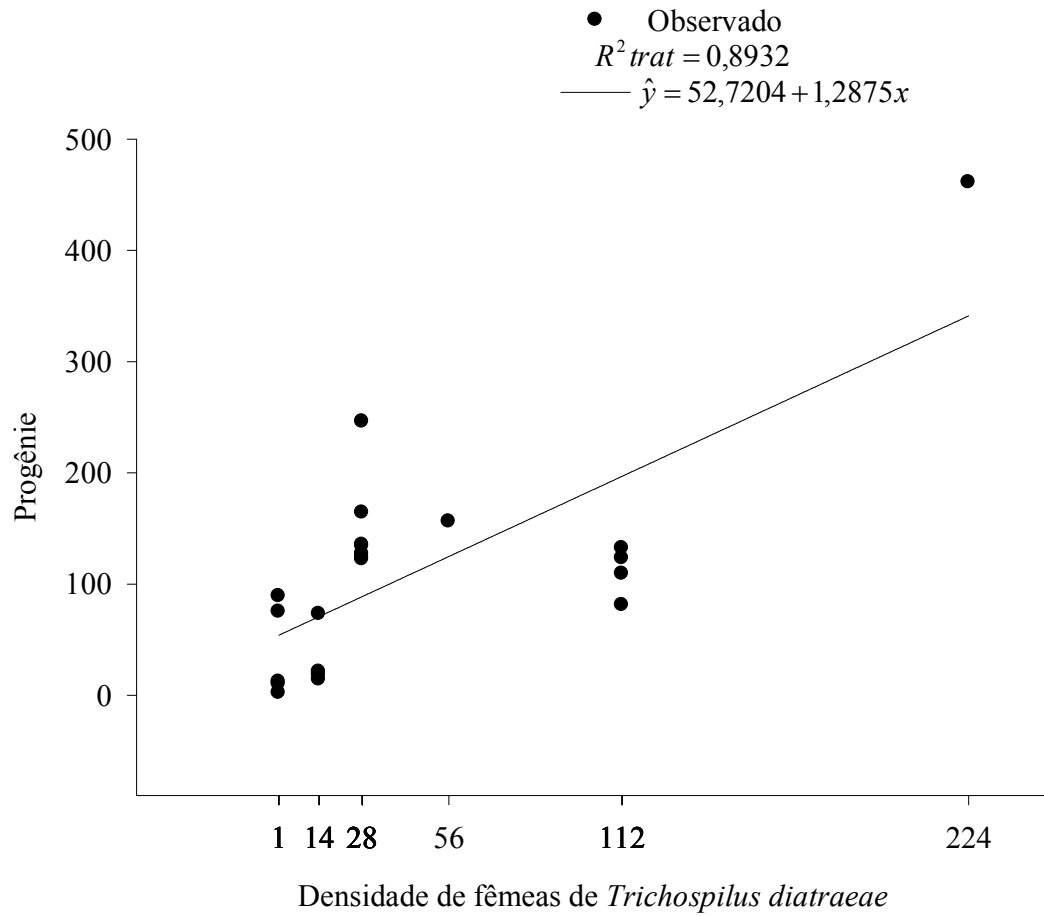


Figura 2 – Progênie por pupa de *Trichospilus diatraeae* com 1, 14, 28, 56, 112 ou 224 fêmeas por pupa de *Bombyx mori* a  $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 horas ( $F=26,772$ ;  $P=0,0002$ ;  $R^2_{Trat}=0,8932$ ).

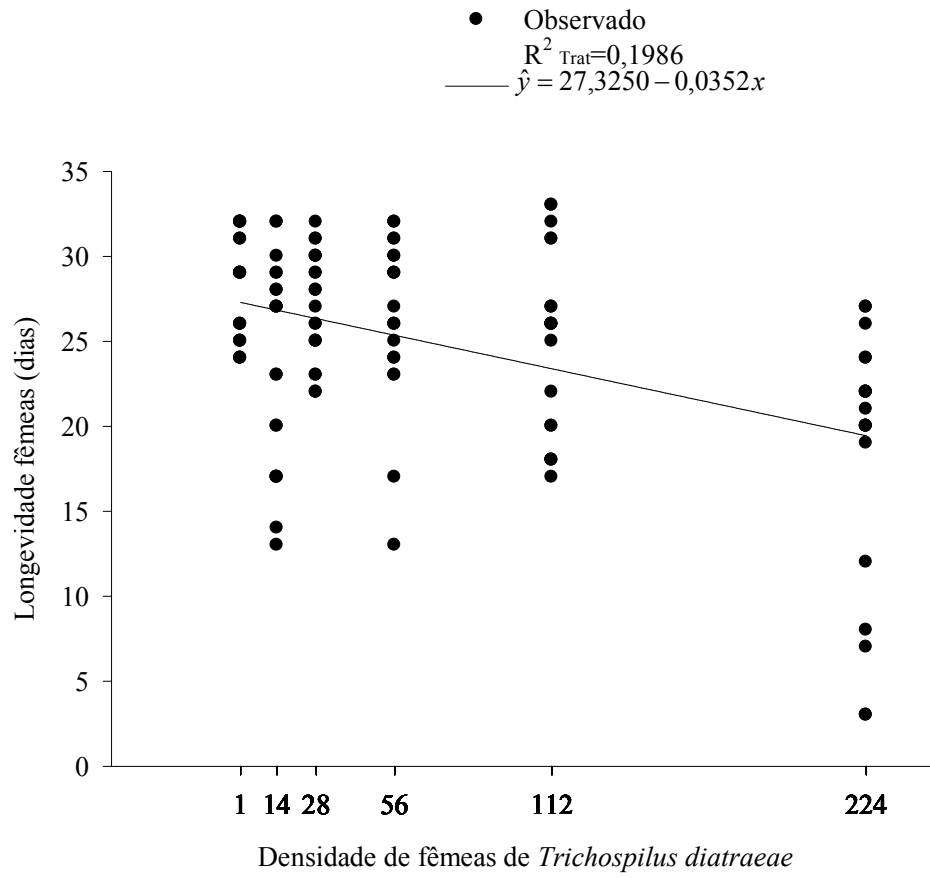


Figura 3 – Longevidade de fêmeas (dias) de *Trichospilus diatraeae* com 1, 14, 28, 56, 112 ou 224 fêmeas por pupa de *Bombyx mori* a  $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 horas ( $F=9,054$ ;  $P=0,0046$ ;  $R^2_{\text{Trat}}=0,1986$ ).



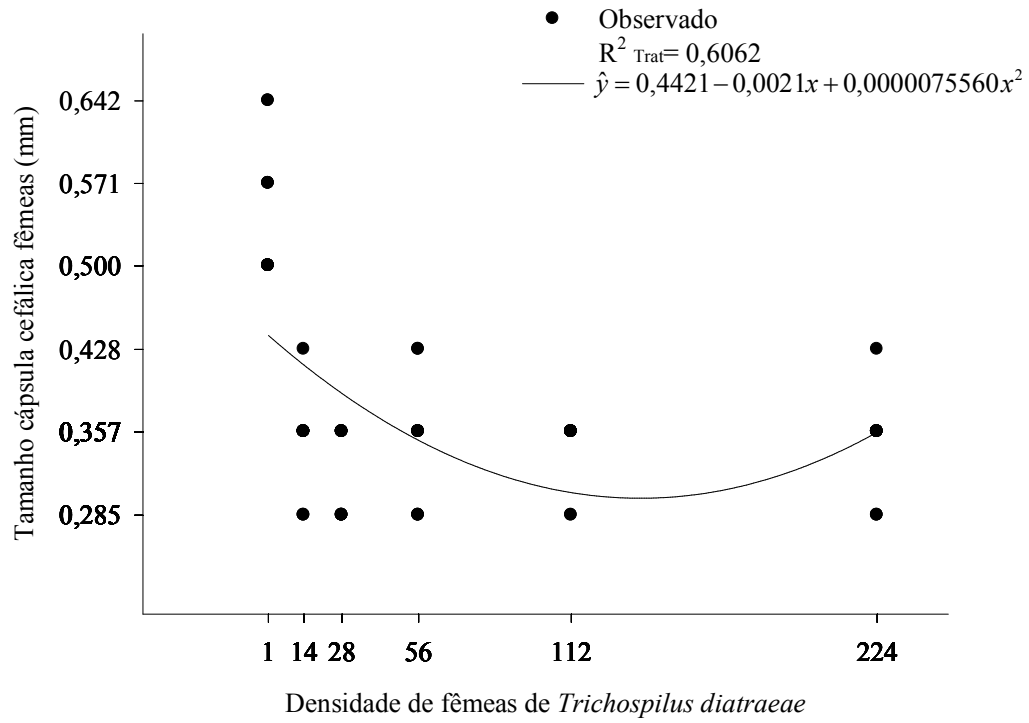


Figura 4 - Tamanho da cápsula cefálica de fêmeas (mm) de *Trichospilus diatraeae* com 1, 14, 28, 56, 112 ou 224 fêmeas por pupa de *Bombyx mori* a  $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 horas ( $F=97,044$ ;  $P= 0,001$ ;  $R^2_{\text{Trat}}= 0,6062$ ).

### **CAPÍTULO III**

**Progênie de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) de diferentes idades**

## **Progênie de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) de diferentes idades**

**Resumo:** *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) possui hábito gregário, principalmente de pupas de lepidópteros. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da idade de pupas do hospedeiro *Bombyx mori* Linnaeus, 1758, (Lepidoptera: Bombycidae) nas características biológicas de *T. diatraeae* em laboratório. Pupas de *B. mori* com 24, 48, 72, 96 ou 120 horas de idade, foram expostas ao parasitismo por 28 fêmeas de *T. diatraeae* com idade de 24 a 48 horas de idade por 24 horas e com 12 repetições, para cada tratamento. A porcentagem de parasitismo de *T. diatraeae* em pupas de *B. mori* foi de 8,3% e 25% para pupas com idades de 24 e 48 horas, respectivamente e de 100% para as demais. A porcentagem de emergência de progênie variou de 0% a 91,6%. A duração do ciclo de *T. diatraeae* foi de  $19,00 \pm 0,00$  dias e de  $18,00 \pm 0,35$  dias nas pupas com idades de 48 e 120 horas, respectivamente. A progênie por pupa variou de  $277,00 \pm 110,31$  a  $489,37 \pm 255,40$  descendentes nas pupas com idades de 48 e 120 horas, respectivamente. Pupas de *B. mori* com idades entre 72 a 120 horas são mais adequadas para criação de *T. diatraeae* em condições de laboratório.

**Palavras chaves:** hospedeiro alternativo, parasitismo, desenvolvimento

**Abstract:** *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) has habit gregarious, mainly of pupae of lepidopterans. The objective of this study was to evaluate the effect of age of pupae of the host *Bombyx mori* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Bombycidae) in biological characteristics of *T. diatraeae* in the laboratory. Pupae of *B. mori* with 24, 48, 72, 96 or 120 hours of age, were exposed to parasitism by 28 females of *T. diatraeae* aged from 24 to 48 hours of age for 24 hours and with 12 repetitions for each treatment. The parasitism rate of *T. diatraeae* in pupae of *B. mori* was 8.3 % and 25% for pupae at the ages of 24 and 48 hours, respectively, and 100% for the other. The percentage of emergence of progeny ranged from 0% to 91.6 %. The duration of the cycle of *T. diatraeae* was  $19.00 \pm 0.00$  days and  $18.00 \pm 0.35$  days in the pupa with ages of 48 and 120 hours respectively. The progeny of pupae ranged from  $277.00 \pm 110.31$  to  $489.37 \pm 255.40$  descendants in the pupa with ages ranging from 48 to 120 hours, respectively. Pupae of *B. mori* with ages between 72 to 120 hours are more suitable for creation of *T. diatraeae* under laboratory conditions.

**Key Words:** alternative host, parasitism, development

## Introdução

*Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) é um parasitóide de pupas preferencialmente da ordem Lepidoptera, (BOUCEK, 1976) e tem sido estudado como um inimigo natural com potencial para ser utilizado no controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1974) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar (FÁVERO, 2009; GRANCE, 2010; RODRIGUES, 2010).

A idade do hospedeiro e do parasitóide (THOMAZINI & BERTI FILHO, 2000; MATOS NETO et al., 2004), associado a outros fatores como a temperatura, a umidade e a dieta do hospedeiro podem influenciar nas características biológicas do inimigo natural, como, por exemplo, o sucesso do parasitismo e a eficiência de sistemas de criação de inimigos para programas de controle biológico (PARRA, 2002; PASTORI, 2010).

O desenvolvimento de técnicas de criação de parasitóides para programas de controle biológico depende do hospedeiro alternativo adequado (PRATISSOLI et al., 2005). Portanto, a qualidade nutricional, tamanho, idade, resistência mecânica e capacidade de resposta imunológica a esses inimigos naturais devem ser considerados na seleção do hospedeiro alternativo (GODFRAY, 1994).

*Bombyx mori* Linneaus, 1758 (Lepidoptera: Bombycidae) pode ser criado em grandes quantidades e sua pupa, apesar de ser encerrada em casulo, pode ser facilmente retirada (PEREIRA et al., 2009a) e além disso apresenta alto valor protéico (WANG-DUN et al., 2004).

Pupas de *B. mori* com idade de 72 horas foram recomendadas como hospedeiro alternativo para o desenvolvimento de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) (PEREIRA et al., 2009b; PEREIRA et al., 2010). Como *P. elaeisis* pertence à mesma família de *T. diatraeae* decidiu-se utilizar essas pupas como hospedeiro alternativo para *T. diatraeae*.

O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da idade de pupas do hospedeiro *B. mori* nas características biológicas de *T. diatraeae* em laboratório.

## Material e Métodos

### Local de condução dos experimentos

O experimento foi realizado no Laboratório de Entomologia/Controle Biológico da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados, Mato Grosso do Sul, com as seguintes etapas:

## **Criação do hospedeiro alternativo e do parasitóide para montagem do experimento**

### **Criação de *Bombyx mori***

Ovos de *B. mori* foram fornecidos pela Empresa Bratac®. Lagartas recém-eclodidas foram colocadas em bandejas plásticas (39,3 x 59,5 x 7,0 cm) com folhas de amoreira (*Morus alba* L.) trocadas diariamente até a formação dos casulos. Esses, transferidos para bandejas plásticas (28,3 x 36,0 x 7,0cm) e acondicionadas em câmara climatizada à  $25 \pm 1^\circ \text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 12 horas (PEREIRA et al., 2009a).

### **Criação de *Trichospilus diatraeae***

Adultos de *T. diatraeae* oriundos da criação do Laboratório de Entomologia/Controle Biológico da Faculdade de Ciências Agrárias da UFGD foram mantidos em tubos de vidro (2,5 x 8,5 cm) fechados com algodão e alimentados com gotículas de mel puro. Para manutenção da criação, pupas de *D. saccharalis* com 24 a 48 horas foram expostas ao parasitismo por 72 horas. Após esse período as pupas parasitadas foram individualizadas e mantidas à  $25 \pm 1^\circ \text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas até a emergência de adultos (FÁVERO, 2009).

### **Desenvolvimento experimental**

Os tratamentos foram representados por pupas de *B. mori* com idades de 24, 48, 72, 96 e 120 horas com peso entre 0,700 mg a 1,0 gr sendo parasitadas por 28 fêmeas de *T. diatraeae* com 24 a 48 horas de idade. As fêmeas do parasitóide foram retiradas dos tubos após 24 horas de parasitismo e as pupas hospedeiras foram mantidas em câmara climatizada à  $25^\circ \pm 1^\circ \text{C}$  umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas até a emergência dos adultos parasitóides.

A duração do ciclo de vida (ovo-adulto); a porcentagem de parasitismo; a porcentagem de emergência de progênie; o número de parasitoides emergidos; a longevidade de machos e de fêmeas (alimentados com mel), a razão sexual (RS= número de fêmeas/ número de adultos) e o tamanho do corpo e da largura da cápsula cefálica de machos e de fêmeas (as medidas de tamanho foram realizadas com o auxílio de ocular micrométrica acoplada ao microscópio estereoscópico) foram avaliados. O sexo dos parasitóides foi determinado pelas características morfológicas da antena e abdome (PARON, 1999).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) para cada tratamento representado por *T. diatraeae* criado em *B. mori* com idades de 24, 48, 72,

96 e 120 horas, com 12 repetições e 10 e 20 repetições constituídas por 10 machos e 20 fêmeas, escolhidos(as) nos descendentes de cada tratamento para longevidade, tamanho do corpo e largura da cápsula cefálica de machos e de fêmeas, respectivamente.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e os modelos escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão utilizando o teste “t” de Student adotando o nível de 5% de probabilidade, no coeficiente de determinação ( $R^2 = \text{SQReg} / \text{SQTotal}$ ) e no fenômeno biológico estudado.

Os valores da porcentagem de parasitismo e de emergência de progênie foram submetidos à análise de modelos lineares generalizados com distribuição binomial ( $P \leq 0,05$ ) pelo R Statistical System (IHAKA & GENTLEMAN, 1996). Essa análise foi realizada com os dados originais que são não-paramétricos, mas esses foram expressos em porcentagem para facilitar a visualização.

### Resultados

A porcentagem de parasitismo e de emergência de *T. diatraeae* em pupas de *B. mori* foi influenciada pela idade do hospedeiro variando de 8,3% e 0% em pupas com 24 horas de idade a 100% e 66,6% em pupas com 120 horas de idade (Figura 1). A duração do ciclo (ovo-adulto) de *T. diatraeae* em pupas de *B. mori* ( $F = 5,810$ ;  $P = 0,003$ ;  $R^2_{\text{Trat}} = 0,420$ ) decresceu em relação à idade do hospedeiro, com  $19,00 \pm 0,00$  dias em pupas de 48 horas e  $18,00 \pm 0,35$  dias em pupas de 120 horas (Figura 2). A progênie de *T. diatraeae* produzida por pupa de *B. mori* não foi afetada pela idade do hospedeiro, variando com médias de  $277,00 \pm 110,31$  a  $489,375 \pm 255,40$  descendentes, em pupas com 48 e 120 horas, respectivamente.

A razão sexual de *T. diatraeae* variou nas diferentes idades dos hospedeiros testadas, onde apresentou alta razão nos indivíduos emergidos em pupas de até 96 horas ( $F = 8,355$ ;  $P = 0,00056$ ;  $R^2_{\text{Trat}} = 0,510$ ), com médias de  $0,75 \pm 0,04$  a  $0,86 \pm 0,05$  (Figura 3). A longevidade de fêmeas do parasitóide aumentou com a idade do hospedeiro de 96 horas ( $F = 38,578$ ;  $P < 0,05$ ;  $R^2_{\text{Trat}} = 0,350$ ), com médias de  $11,15 \pm 5,54$  dias em pupas de 48 horas e  $13,65 \pm 8,15$  dias em pupas de 120 horas (Figura 4). A longevidade de machos do parasitóide também apresentou maior tempo de vida em relação à idade da pupa ( $F = 7,831$ ;  $P = 0,0003$ ;  $R^2_{\text{Trat}} = 0,394$ ), com médias de  $9,80 \pm 6,87$  a  $7,50 \pm 4,64$  dias.

A largura da cápsula cefálica e o tamanho do corpo dos adultos desse parasitóide foram semelhantes entre os tratamentos. A largura da cápsula cefálica de fêmeas e machos de *T. diatraeae* apresentou médias de  $0,364 \pm 0,041$  mm a  $0,388 \pm 0,073$  mm e  $0,339 \pm 0,033$  mm a  $0,324 \pm 0,070$  mm, em pupas de 48 e 120 horas, o tamanho do

corpo das fêmeas e machos de *T. diatraeae* variou de  $1,051 \pm 0,068$  mm a  $1,075 \pm 0,082$  mm e  $0,949 \pm 0,095$  mm a  $1,050 \pm 0,058$  mm, em pupas de 48 e 120 horas respectivamente.

### Discussão

A porcentagem de parasitismo e emergência de *T. diatraeae* em pupas de *B. mori* foram afetadas pela idade do hospedeiro. Os parasitóides podem mostrar preferência por hospedeiros em diferentes estágios de desenvolvimento, pois a postura em estágios inadequados pode causar o declínio na sobrevivência da prole ou no tamanho dos adultos que, por consequência, afeta outras características, reduzindo assim o valor adaptativo do parasitóide (CAMPOS-FARINA & CHAUD-NETTO, 2000) e o valor adaptativo (*fitness*) é a contribuição genética de um organismo para as futuras gerações (CHARNOV & SKINNER, 1984). Como características de valor adaptativo podem ser citadas: o tamanho do parasitóide adulto, o tempo de desenvolvimento do parasitóide, a fecundidade, a longevidade e a mobilidade (CHARNOV et al., 1981; WAAGE & GODFRAY, 1985).

O aumento da idade das pupas de *B. mori* causou descréscimo na duração do ciclo de vida (ovo-adulto) de *T. diatraeae*, isso pode estar relacionado com as condições fisiológicas apropriadas do hospedeiro para o desenvolvimento do parasitóide. Os mecanismos de defesa do hospedeiro (taxa de encapsulação e produção de toxinas) não podem ser mantidos ativos por muito tempo devido ao seu alto custo metabólico (SCHMID-HEMPEL, 2005). Resultados semelhantes foram obtidos com *P. elaeisis* em pupas de *B. mori* com idades de 48 a 72 horas, porém pupas de 96 horas o tempo do desenvolvimento é maior (PEREIRA et al., 2009b), o que não foi constatado para *T. diatraeae*.

A progênie de *T. diatraeae* produzida por pupa de *B. mori* não foi afetada pela idade do hospedeiro, no intervalo estudado. Isso pode ter ocorrido, pois os hospedeiros devem ter uma idade determinada ou estar em estágio adequado para o desenvolvimento do parasitóide (SMILOWITZ & IWANTSCH, 1973). A progênie pode variar conforme a espécie hospedeira, como ocorreu com *T. diatraeae* emergidos de pupas de *Spodoptera frugiperda* Smith, 1797, *Anticarsia gemmatalis* Hubner, 1818, *D. saccharalis* e *Heliothis virescens* (Fabricius, 1781) (PARON & BERTI FILHO, 2000) e em *T. molitor* (FÁVERO, 2009). Isso pode estar relacionado com a capacidade de suporte do hospedeiro (GRANCE, 2010).

Não houve emergência da progênie do parasitóide em pupas com idade de 24 horas, esse fato pode estar relacionado com o sistema imunológico do hospedeiro. Um hospedeiro pode apresentar defesa celular e reações que envolvem o encapsulamento e melanização do ovo do endoparasitóide (PENNACCHIO & STRAND, 2006). Porém, foi constatado baixa taxa parasitismo e emergência da progênie de *P. elaeisis* em pupas de *B. mori* com idade de 24 horas (PEREIRA et al., 2009b). De fato também foram obtidos em *Muscidifurax uniraptor* Kogan & Legner, 1970 (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas de *Musca domestica* Linnaeus, 1758 (Diptera: Muscidae) com idades de 24 horas (THOMAZINI & BERTI FILHO, 2000).

A razão sexual de *T. diatraeae* sofreu influência em relação à idade do hospedeiro, a quantidade de fêmeas foi maior em hospedeiros com idades entre 72 e 96 horas. Maior quantidade de fêmeas produzidas por hospedeiro é importante para sistemas de criação massal, experimentos de laboratório e seleção de indivíduos para liberação no campo (AMALIN et al., 2005), pelo fato de as fêmeas serem responsáveis pela geração subsequente (UÇKAN & GULEL, 2002). O número de parasitóides, densidade e qualidade do hospedeiro influenciam a razão sexual (GODFRAY, 1994) e interações competitivas entre os imaturos dos parasitóides no interior do hospedeiro poderão, nos casos de parasitismo gregário, alterar a razão sexual dos parasitóides produzidos (VINSON, 1985).

A longevidade dos adultos (fêmeas e machos) de *T. diatraeae* diferiu com a idade das pupas de *B. mori*. Isso também pode estar relacionado com as condições fisiológicas apropriadas do hospedeiro para o desenvolvimento do parasitóide. Maior longevidade representa uma característica favorável à espécie, pois confere as fêmeas parasitóides mais tempo de busca por hospedeiros no campo, em condições de escassez dos mesmos (FOERSTER et al., 1999).

O tamanho da cápsula cefálica e o tamanho do corpo de fêmeas e de machos de *T. diatraeae* não foram afetados pela idade do hospedeiro. Fêmeas e machos de *T. diatraeae* apresentaram largura da cápsula cefálica semelhante ao observado quando criados em pupas de *A. gemmatalis* (PASTORI, 2010) e de *D. saccharalis* (GRANCE, 2010) e com longevidade satisfatória para sua utilização em programas de controle biológico (FÁVERO, 2009; GRANCE, 2010; PASTORI, 2010).

O desenvolvimento de *T. diatraeae* em pupas de *B. mori* com idades de 72 a 120 horas favoreceu a obtenção de número adequado de descendentes e menor duração da



fase imatura do parasitóide, facilitando sua produção em larga escala para liberações no campo.

### Conclusões

*Trichospilus diatraeae* desenvolve-se em pupas de *B. mori* com idades a partir de 48 horas.

De maneira geral pupas de *B. mori* com idades entre 72 a 120 horas proporcionaram maior produção de descendentes de *T. diatraeae* em condições de laboratório.

### Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de estudo.

### Referências Bibliográficas

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

BOUCEK, Z. The African and Asiatic species of *Trichospilus* and *Cotterellia* (Hymenoptera, Eulophidae). **Bulletin Entomological Research**, v.65, p.669-681, 1976.

CAMPOS-FARINHA, A.E. de C. & CHAUL-NETTO, J. Biologia reprodutiva de *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae). Avaliação do número de posturas, prole e razão sexual do parasitóide em relação ao tamanho do hospedeiro *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera:Crambidae). **Arquivos Instituto Biologia**. v.67, p.249-252, 2000.

CHARNOV, E.L.; LOS-DEN HARTIGH, R.L.; JONES, W.T.; VAN DEN ASSEM, J. Sex ratio evolution in a variable environment. **Nature**, v.289, p.27-33, 1981.

CHARNOV, E. L. & SKINNER, S.W. Evolution of host selection and clutch size in parasitoid wasps. **Florida Entomology**, v.67, p.5-21, 1984.

FÁVERO, K. **Biologia e técnicas de criação de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) e *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)**. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS. 63p. 2009.

FOERSTER, L.A.; DOETZER, A.K.; AVANCI, M.R.F. Capacidade reprodutiva e longevidade de *Glyptapanteles muesebecki* (Blanchard) (Hymenoptera: Braconidae) parasitando lagartas de *Pseudaletia sequax* Franclemont (Lepidoptera: Noctuidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.28, p.485-490, 1999.

GODFRAY, H.C.J. **Parasitoids, Behavioral and Evolutionary Ecology**, Princeton University Press, Princeton, NJ, USA, p.473, 1994.

GRANCE, E.L.V. **Potencial de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar**. Dissertação (Mestrado em Entomologia) Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS. 67p. 2010.

IHAKA, R.; GENTLEMAN, R. A language for data analysis and graphics. **Journal of Computational and Graphical Statistics**, v.5, p.299-314, 1996.

MATOS NETO, F.C.; CRUZ, I.; ZANUNCIO, J.C.; SILVA, C.H.O.; PICANÇO, M.C. Parasitism by *Campoletis flavicincta* on *Spodoptera frugiperda* in corn. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.1077-1081, 2004.

PARRA, J.R.P. Controle biológico: criação massal de inimigos naturais. In: PARRA, J. R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (eds). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, p.143-161, 2002.

PARON, M. R. **Bioecologia de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Maragabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), endoparasitóide de Lepidoptera**. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior “Luis de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP. 53p. 1999.

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

PASTORI, P.L. **Desenvolvimento e qualidade de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) utilizando hospedeiros alternativos**. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa- MG. 83p. 2010.

PENNACCHIO, F.; STRAND, M.R. Evolution of developmental strategies in parasitic hymenoptera. **Annual Review of Entomology**, v.51, p.233-258, 2006.

PEREIRA, F.F.; ZANUNCIO, J.C.; SERRÃO, J.E.; PASTORI, P.L.; RAMALHO, F.S. Reproductive performance of *Palmistichus elaeisis* Delvare e La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) with previously refrigerated pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). **Brazilian Journal of Biology**, v.69, p.631-637, 2009a.

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

PEREIRA, F.P.; ZANUNCIO, J.C.; SERRÃO, J.E.; ZANUNCIO, T.V.; PRATISSOLI, D.; PASTORI, P.L. The density of females of *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.2, p. 1-9, 2010.

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

RODRIGUES, M.A.T. **Exigências térmicas e hídricas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)**. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS. 52p. 2010.

SCHMID-HEMPEL, P. Evolutionary ecology of insect immune defenses. **Annual Review of Entomology**, v. 50, p. 529-551, 2005.

SMILOWITZ, Z. & IWANTSCH, G.F. Relationships between the parasitoid *Hyposoter exiguae* and the cabbage looper *Trichoplusia ni*: effects of host age on development rate of the parasitoid. **Environm. Entomology**, v.2, p.759-63, 1973.

THOMAZINI, M.J.; BERTI-FILHO, E. Influência da densidade e idade de pupas da mosca doméstica no parasitismo por *Muscidifurax uniraptor* (Hymenoptera: Pteromalidae). **Revista de Agricultura**, v.75, p.339-348, 2000.

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

VINSON, S.B. The behavior of parasitoids. In: KERKUT, G.A. & GILBERT, L.I. eds, **Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacolgy**. v.9, New York, Pergamon Press, p.417-469, 1985

WAAGE, J.K. & GODFRAY, H.C.J. Reproductive strategies and population ecology of insect parasitoids. In: SIBLY, R.M. & SMITH, R.H. (Eds.). **Behavioural ecology, ecological consequences of adaptive behaviour**. London: Blackwell Scientific Publications, 1985. p.449-470.

WANG-DUN; BAI-YAOYU; ZAHANG-CHUANXI. A review on the nutritive value of silk worm pupae and its exploitation. **Entomological Knowledge**, v.41, p.418-421, 2004.

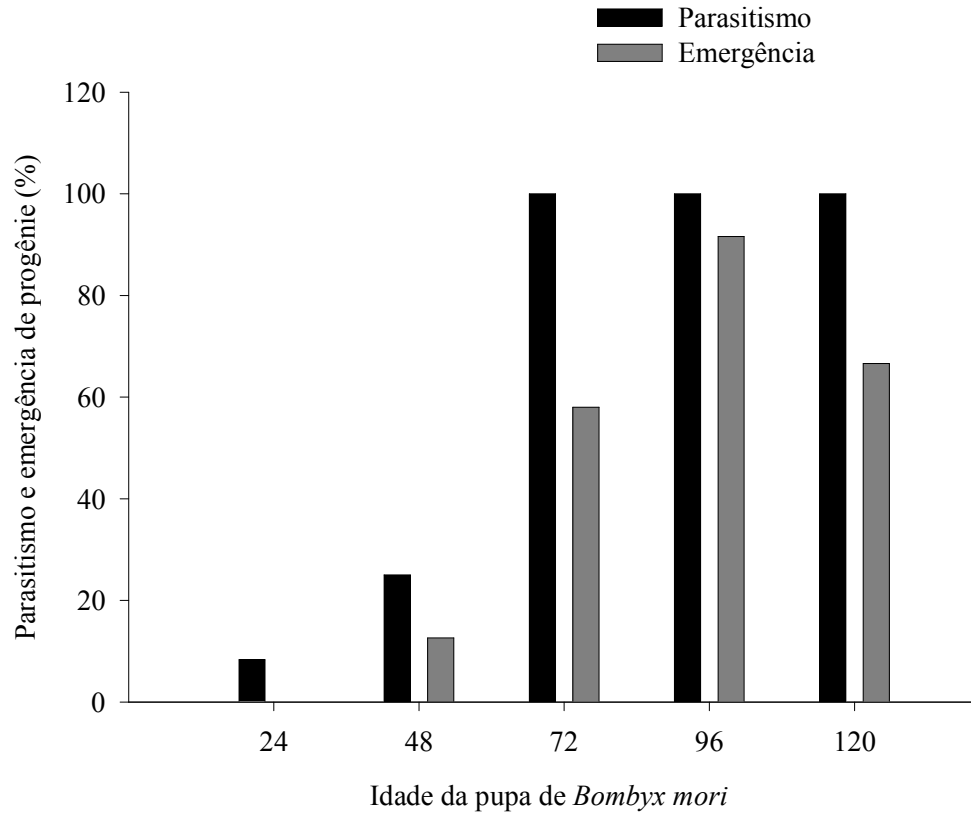


Figura 1 – Porcentagem de parasitismo e de emergência de *Trichospilus diatraeae* por pupa de *Bombyx mori* com idades de 24, 48, 72, 96 ou 120 horas a  $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 horas. Parasitismo ( $P < 0,05$ ) Emergência ( $P < 0,05$ ).

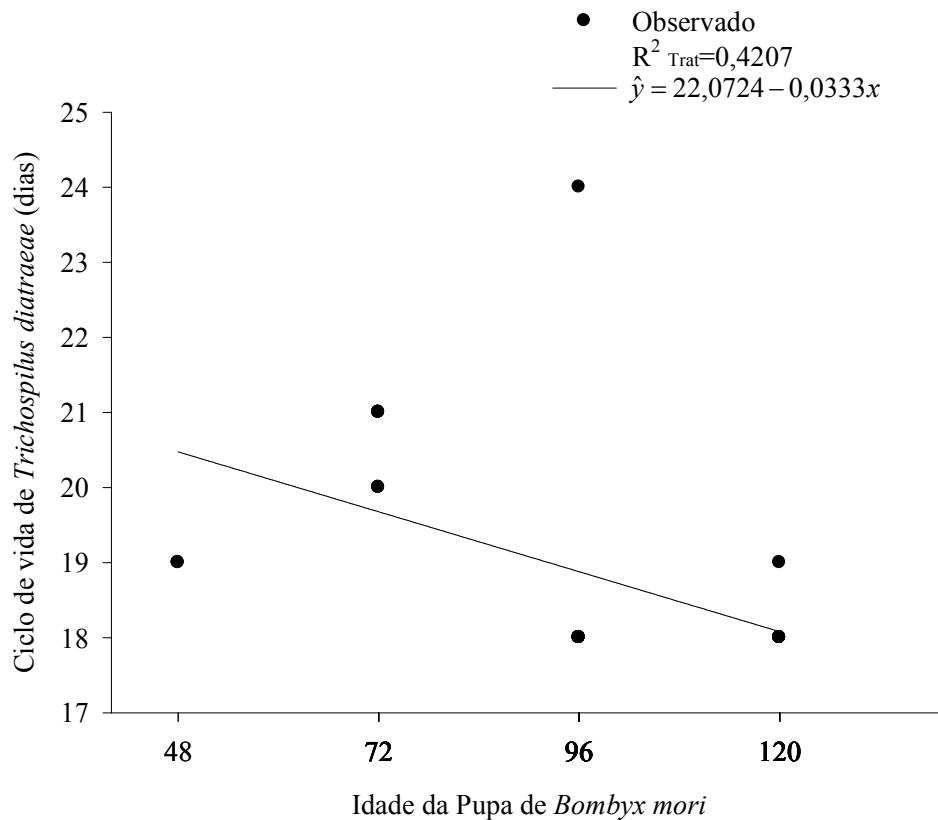


Figura 2 – Duração do ciclo de vida (ovo-adulto) de *Trichospilus diatraeae* por pupa de *Bombyx mori* com idades de 24, 48, 72, 96 ou 120 horas a  $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 horas ( $F=5,810$ ;  $P=0,003$ ;  $R^2_{\text{Trat}}= 0,4207$ ).

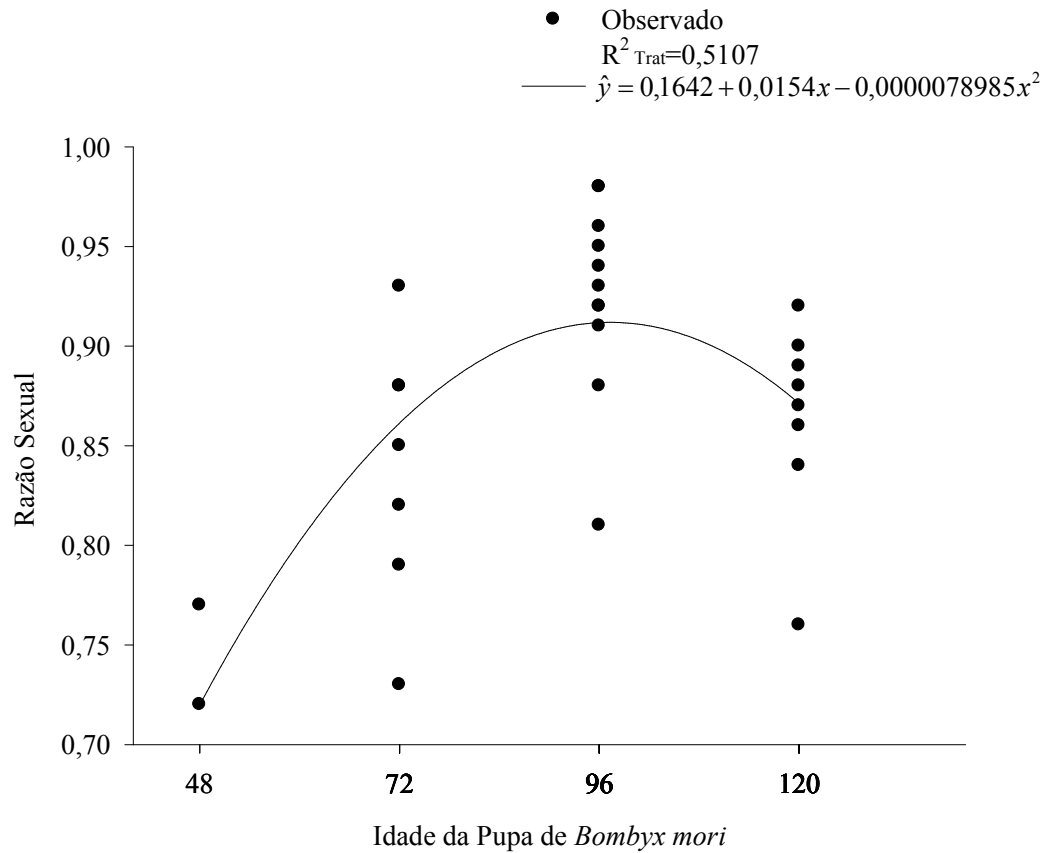


Figura 3 – Razão Sexual de *Trichospilus diatraeae* por pupa de *Bombyx mori* com idades de 24, 48, 72, 96 ou 120 horas a  $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 horas ( $F=8,355$ ;  $P<0,05$ ;  $R^2_{\text{Trat}}=0,5107$ ).

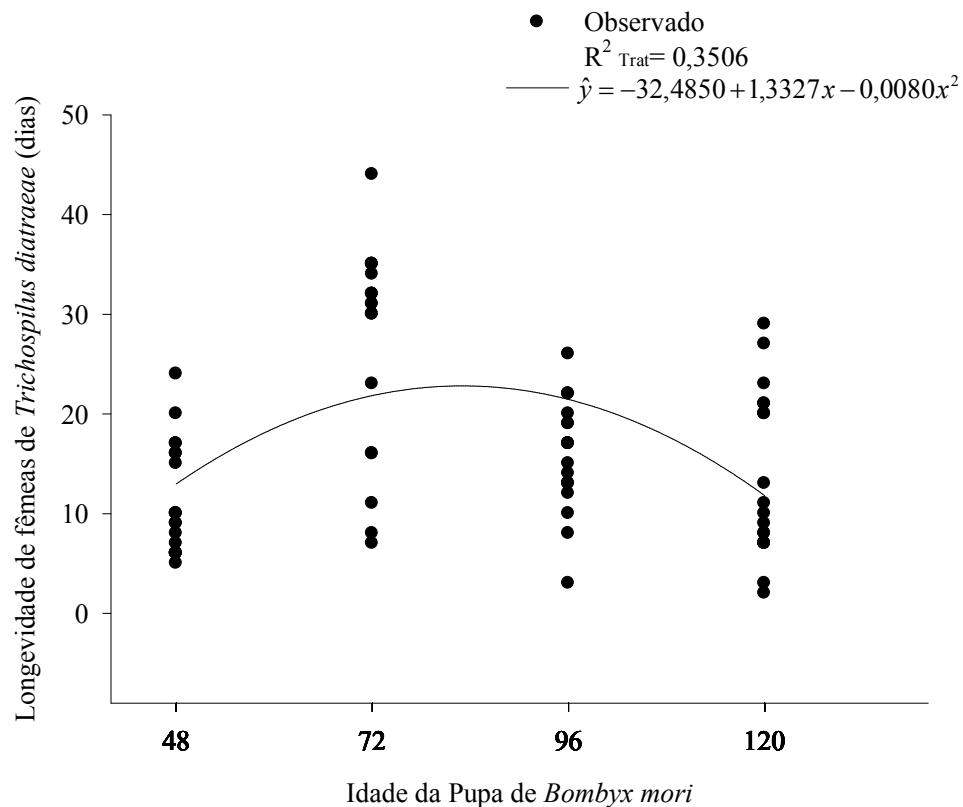


Figura 4 – Longevidade de fêmeas (dias) de *Trichospilus diatraeae* emergidos de pupa de *Bombyx mori* com idades de 24, 48, 72, 96 ou 120 horas a  $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 horas ( $F=38,578$ ;  $P<0,05$ ;  $R^2_{\text{Trat}}=0,3506$ ).

## **CAPÍTULO IV**

**Parasitismo e desenvolvimento de *Trichospilus diatraeae*  
(Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Bombyx mori* (Lepidoptera:  
Bombycidae) em diferentes temperaturas**



## **Parasitismo e desenvolvimento de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) em diferentes temperaturas**

**Resumo:** A temperatura é um fator ambiental que interfere diretamente no metabolismo dos insetos. *Trichospilus diatraeae* Cherian e Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) é um parasitóide pupal e apresenta potencial para ser utilizado como alternativa de controle de lepidópteros-praga. O objetivo desse trabalho foi avaliar o parasitismo e o desenvolvimento de *T. diatraeae* em pupas do hospedeiro alternativo *Bombyx mori* Linnaeus, 1758, (Lepidoptera: Bombycidae) em diferentes temperaturas em laboratório. Pupas de *B. mori* com 72 horas de idade e com peso entre 0,700 a 1,000 g, foram individualizadas em tubos de vidro com 28 fêmeas de *T. diatraeae* com 24 a 48 horas de idade, expostas ao parasitismo por 24 horas em câmaras climatizadas nas temperaturas de 16, 19, 22, 25, 28 ou 31°C, 70 ± 10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas, respectivamente. O experimento foi conduzido em DIC com 12 repetições, para cada tratamento. A porcentagem de parasitismo de *T. diatraeae* em pupas de *B. mori* foi de 91,6% para as temperaturas de 16 e 19°C e de 100% para as demais. A porcentagem de emergência de progênie foi de 8,3%, 16,6%, 50%, 58%, 58 % e 0% para temperaturas de 16, 22, 25, 28 ou 31°C, respectivamente. A duração do ciclo de *T. diatraeae* foi de 60,00 ± 0,00 dias e de 15,71 ± 0,49 dias nas temperaturas de 16 e 28°C, respectivamente. A progênie por pupa variou de 23,00 ± 0,00 a 155,29 ± 86,80 descendentes nas temperaturas de 16 e 28°C, respectivamente. A razão sexual apresentou médias de 0,78 ± 0,00 a 0,82 ± 0,06 nas temperaturas de 16 e 28°C, respectivamente. A temperatura base (T<sub>b</sub>) e a constante térmica (K) foram de 12,79°C e 242,83 graus-dia (GD), respectivamente. Temperaturas acima ou abaixo da faixa térmica de 25 a 28°C influenciam negativamente os parâmetros biológicos de *T. diatraeae*.

**Palavras chaves:** parasitóide de pupa, hospedeiro alternativo, temperatura base.

**Abstract:** Temperature is an environmental factor that directly interferes with the metabolism of insects. *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) is a pupal parasitoid and have the potential to be used as alternative control lepidopteran pests. The aim of this study was to evaluate the development and parasitism of *T. diatraeae* in pupae of the alternative host *Bombyx mori* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Bombycidae) in laboratory at different temperatures. Pupae of *B. mori* 72 hours old and weighing between 0,700 to 1,000 mg were individually placed in glass vials with 28 females of *T. diatraeae* 24 to 48 hours old, exposed to parasitism for 24 hours in a climatic chamber at temperatures of 16, 19, 22, 25, 28 or 31°C, 70 ± 10% relative humidity and photoperiod of 14 hours, respectively. The experiment was conducted in DIC with 12 replications for each treatment. The percentage of parasitism of *T. diatraeae* in pupae of *B. mori* was 91,6% for the temperatures of 16 and 19°C and 100% for the others. The percentage of emergence of progeny was 8,3%, 16,6%, 50%, 58%, 58% and 0% for temperatures of 16, 22, 25, 28 or 31° C, respectively. The cycle of *T. diatraeae* was 60.00 ± 0.00 days and 15.71 ± 0.49 days at temperatures of 16 and 28°C, respectively. Progeny per pupa ranged from 23,00 ± 0,00 to 155,29 ± 86,80 offspring at temperatures of 16 and 28° C, respectively. The sex ratio showed an average of 0,78 ± 0,00 to 0,82 ± 0,06 at temperatures of 16 and 28° C, respectively. The base temperature (T<sub>b</sub>) and thermal constant (K) were 12,79 ° C and 242,83 degree-days (DD), respectively. Temperatures above or below the

temperature range from 25 to 28°C negatively influence the biological parameters of *T. diatraeae*.

**Keywords:** parasitoid pupae, alternative host, base temperature.

### Introdução

*Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) é um parasitóide pupal, preferencialmente da ordem Lepidoptera, (BOUCEK, 1976) e que tem sido estudado como agente potencial no controle biológico de pragas (PARON & BERTI-FILHO, 2000; FÁVERO, 2009; GRANCE, 2010; RODRIGUES, 2010). Pupas de *Bombyx mori* Linneaus, 1758, (Lepidoptera: Bombycidae) apresenta alto valor protéico (WANG-DUN et al., 2004). Esse hospedeiro pode ser utilizado como alternativa para criação de endoparasitóides de pupas (PEREIRA et al., 2009).

A temperatura interfere diretamente no desenvolvimento da população dos insetos, pois é um fator de regulação no desenvolvimento desses (RODRIGUES, 2004). O desenvolvimento do inseto tende a ser alterado em temperatura acima ou abaixo da temperatura ótima (BAZZOCCHI et al., 2003). A faixa de temperatura ideal deve ser determinada, pois podem interferir na sobrevivência, fecundidade, fertilidade, parasitismo e longevidade dos parasitóides (URBANEJA et al., 2001; RODRIGUES et al., 2004).

A determinação das exigências térmicas de insetos é importante, pois em função de suas necessidades térmicas e do local analisado, podem existir variações na densidade populacional da praga e de seus inimigos naturais (HADDAD et al., 1999)

Em laboratório, a determinação da temperatura “ótima”, fornece subsídios para a obtenção do número de parasitóides desejados, com previsão de sobrevivência, duração e capacidade reprodutiva de fêmeas em temperaturas conhecidas (PRATISSOLI & PARRA, 2000; FERREIRA et al., 2003; PEREIRA et al., 2009).

Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar o parasitismo e o desenvolvimento de *T. diatraeae* em pupas do hospedeiro alternativo *B. mori* em diferentes temperaturas.

### Material e Métodos

#### Local de condução dos experimentos

O experimento foi realizado no Laboratório de Entomologia/Controle Biológico da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados, Mato Grosso do Sul, com as seguintes etapas:

### **Criação do hospedeiro alternativo e do parasitóide para montagem do experimento**

#### **Criação de *Bombyx mori***

Ovos de *B. mori* foram fornecidos pela Empresa Bratac®. Lagartas recém-eclodidas foram colocadas em bandejas plásticas (39,3 x 59,5 x 7,0 cm) com folhas de amoreira (*Morus Alba* L.) trocadas diariamente até a formação dos casulos. Esses, transferidos para bandejas plásticas (28,3 x 36,0 x 7,0cm) e acondicionadas em câmara climatizada à  $25 \pm 1^\circ \text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 12 horas (PEREIRA et al., 2009).

#### **Criação de *Trichospilus diatraeae***

Adultos de *T. diatraeae* oriundos da criação do Laboratório de Entomologia/Controle Biológico da Faculdade de Ciências Agrárias da UFGD foram mantidos em tubos de vidro (2,5 x 8,5 cm) fechados com algodão e alimentados com gotículas de mel puro. Para manutenção da criação, pupas de *D. saccharalis* com 24 a 48 horas foram expostas ao parasitismo por 72 horas. Após esse período as pupas parasitadas foram individualizadas e mantidas à  $25 \pm 1^\circ \text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas até a emergência de adultos (FÁVERO, 2009).

#### **Desenvolvimento experimental**

Pupas de *B. mori* com 72 horas de idade e com peso entre 0,700 a 1,000 g (diferença de intervalo de 0,300 mg), foram individualizadas em tubos de vidro (14 cm de diâmetro x 2,2 cm de altura) com 28 fêmeas de *T. diatraeae* com 24 a 48 horas de idade, sendo permitido o parasitismo por 24 horas. Ao final desse período, as fêmeas foram retiradas, manualmente, e os tubos contendo as pupas foram transferidos para câmaras climatizadas nas temperaturas de 16, 19, 22, 25, 28 e  $31^\circ \text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 14 horas até a emergência dos adultos parasitóides.

A duração do ciclo de vida (ovo-adulto); a porcentagem de parasitismo; a porcentagem de emergência de progênie; o número de parasitoides emergidos; a longevidade de machos e de fêmeas (alimentados com mel), a razão sexual (RS= número de fêmeas/ número de adultos) e o tamanho do corpo e da largura da cápsula cefálica de machos e de fêmeas (as medidas de tamanho foram realizadas com o auxílio de ocular micrométrica acoplada ao microscópio estereoscópico) foram avaliados. O

sexo dos parasitóides foi determinado pelas características morfológicas da antena e abdome (PARON, 1999).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) para cada tratamento representado por *T. diatraeae* criado em *B. mori* em temperaturas de 16, 19, 22, 25, 28 e 31°C com 12 repetições e 10 e 20 repetições constituídas por 10 machos e 20 fêmeas, escolhidos(as) nos descendentes de cada tratamento para longevidade, tamanho do corpo e largura da cápsula cefálica de machos e de fêmeas, respectivamente.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e os modelos escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão utilizando o teste “t” de Student adotando o nível de 5% de probabilidade, no coeficiente de determinação ( $R^2 = \text{SQReg} / \text{SQTotal}$ ) e no fenômeno biológico estudado.

Os valores da porcentagem de parasitismo e de emergência de progênie foram submetidos à análise de modelos lineares generalizados com distribuição binomial ( $P \leq 0,05$ ) pelo R Statistical System (IHAKA & GENTLEMAN, 1996). Essa análise foi realizada com os dados originais que são não-paramétricos, mas esses foram expressos em porcentagem para facilitar a visualização.

A temperatura base ( $T_b$ ) e a constante térmica ( $K$ ) foram calculadas pelo método da hipérbole (HADDAD et al., 1999), através do programa Mobae, baseando-se na duração do ciclo (ovo-adulto) de *T. diatraeae* nas temperaturas testadas para se determinar às exigências térmicas.

## Resultados

O parasitismo de *T. diatraeae* em pupas de *B. mori* não foi influenciado pelas temperaturas com 96% a 16 e 19°C e 100% para as demais. A porcentagem de emergência sofreu influência das temperaturas, sendo: 8,3% a 16°C; 16,6% a 19°C; 50% a 22°C; 58% a 25°C; 58% a 28°C; 0% a 31°C, respectivamente (Figura 1). A duração do ciclo (ovo-adulto) de *T. diatraeae* em pupas de *B. mori* ( $F = 465,223$ ;  $P < 0,0001$ ;  $R^2_{\text{Trat}} = 0,990$ ) decresceu com o aumento da temperatura, com  $60,00 \pm 0,00$  dias à 16°C e  $15,71 \pm 0,49$  dias à 28°C (Figura 2). A progênie de *T. diatraeae* produzida por pupa de *B. mori* variou de  $23,00 \pm 0,00$  a  $155,29 \pm 86,80$  descendentes por pupa, nas temperaturas de 16°C e 28°C, respectivamente.

A razão sexual de *T. diatraeae* foi semelhante nas diferentes temperaturas testadas (16 à 28°C), com médias de  $0,78 \pm 0,00$  a  $0,82 \pm 0,06$ . A longevidade de fêmeas do parasitóide foi semelhante nas temperaturas estudadas ( $F = 4,945$ ;  $P = 0,0009$ ;

$R^2_{\text{Trat}} = 0,915$ ), com médias de  $22,30 \pm 8,06$  dias a  $16^\circ\text{C}$  e  $13,10 \pm 1,88$  dias a  $28^\circ\text{C}$  (Figura 3). A longevidade de machos do parasitóide ( $F = 6,075$ ;  $P = 0,0014$ ;  $R^2_{\text{Trat}} = 0,287$ ), foi semelhante e apresentou médias de  $10,30 \pm 4,00$  a  $10,10 \pm 4,62$  dias.

A largura da cápsula cefálica de fêmeas e machos de *T. diatraeae* com médias de  $0,332 \pm 0,057$  mm a  $0,351 \pm 0,057$  mm e  $0,328 \pm 0,051$  mm a  $0,293 \pm 0,062$  mm, nas temperaturas de  $16^\circ\text{C}$  a  $28^\circ\text{C}$ . O tamanho do corpo das fêmeas e machos de *T. diatraeae* variou de  $1,1102 \pm 0,063$  mm a  $1,0492 \pm 0,118$  mm e  $0,957 \pm 0,090$  mm a  $0,921 \pm 0,052$  mm, nas temperaturas de  $16^\circ\text{C}$  a  $28^\circ\text{C}$ .

As exigências térmicas, para a fase imatura de *T. diatraeae* em pupas de *B. mori* foi baseada no modelo  $Y = (1/D) = -0,052667 + 0,004118x$  ( $R^2 = 95,48$ ), cujos valores para a temperatura base ( $T_b$ ) e constante térmica ( $K$ ) foram de  $12,79^\circ\text{C}$  e  $242,83$  graus-dia (GD), respectivamente (Figura 4).

### Discussão

A duração do ciclo (ovo-adulto) de *T. diatraeae* em pupas de *B. mori* decresceu com o aumento da temperatura ( $16^\circ\text{C}$  a  $28^\circ\text{C}$ ), exceto para  $31^\circ\text{C}$ , em que este parasitóide não concluiu seu ciclo, mas 100% de pupas continham imaturos desse parasitóide esse fato pode ser explicado provavelmente ao excesso de perda de água pela pupa de *B. mori*, nessa faixa térmica, pode ter contribuído para que este parasitóide não completasse seu ciclo. Resultados semelhantes foram obtidos para *T. diatraeae* em pupas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) (RODRIGUES, 2010) e com os parasitóides de ovos do gênero *Trichogramma* criados em ovos de diversos hospedeiros (PEREIRA et al., 2004; ZAGO et al., 2006; PRATISSOLI et al., 2006; PEREIRA et al., 2007; PASTORI et al., 2007; BUENO et al., 2009).

As temperaturas entre  $22^\circ\text{C}$  à  $28^\circ\text{C}$  influenciaram as porcentagens de emergência de *T. diatraeae* em pupas de *B. mori*, sem comprometer seu desenvolvimento. A temperatura afeta o metabolismo, reprodução, longevidade e comportamento alimentar dos insetos (BITTENCOURT & BERTI FILHO, 2004).

A progênie de *T. diatraeae* por pupa de *B. mori* não diferiu entre os tratamentos estudados, mas foi observado nas temperaturas entre  $22$  a  $28^\circ\text{C}$ , houve maior quantidade de indivíduos. Apesar do número de indivíduos ter sido maior nessa faixa de temperatura, essa característica biológica foi considerada satisfatória em todas as temperaturas estudadas, por apresentar maior proporção de fêmeas em relação a machos

desse parasitóide, pois fêmeas parasitóides são as principais responsáveis pelo parasitismo e pela produção de descendentes (MATOS NETO et al., 2004).

A razão sexual de *T. diatraeae* não sofreu influência em relação a diferentes temperaturas. A largura da cápsula cefálica e o tamanho do corpo de fêmeas e machos de *T. diatraeae* também não foram afetados pela temperatura e isso é importante para sistemas de criação massal, experimentos de laboratórios e seleção de indivíduos para liberação no campo (AMALIN et al., 2005).

A longevidade dos adultos (fêmeas e machos) de *T. diatraeae* diferiu com o aumento da temperatura. Estudos indicam que a longevidade está relacionada a diversos fatores como as condições ambientais e gasto de energia durante a cópula e oviposição (PACHECO & CORREA-FERREIRA, 1998). Em criações massais de parasitóides, a capacidade de sobrevivência é um dos requisitos para o controle de qualidade (CARNEIRO et al., 2009).

O conhecimento das exigências térmicas permite calcular e estimar o tempo necessário para o completo desenvolvimento de insetos-praga e de parasitóides (FERREIRA et al., 2003). É importante ressaltar, que a temperatura pode ser manipulada para se produzir parasitóides em larga escala e prever o número de gerações de *T. diatraeae* criados em pupas de *B. mori* em laboratório. Assim com os valores de duração do ciclo de *T. diatraeae*, pode utilizar-se baixa temperatura (16°C), para prolongar o ciclo de vida, visando diminuir seu número de gerações em laboratório, o que é importante quando a incidência do hospedeiro natural é baixo ou devido algum problema na manutenção do hospedeiro alternativo.

Os resultados apresentados demonstram desenvolvimento satisfatório de *T. diatraeae* em pupas de *B. mori* na faixa de temperatura entre 22 a 28°C, por favorecer a obtenção do maior número de descendentes e menor variação e duração da fase imatura do parasitóide, facilitando sua produção em larga escala para possíveis liberações no campo.

### **Conclusão**

*Trichospilus diatraeae* apresentou desenvolvimento satisfatório em pupas de *B. mori*, na faixa térmica entre 22°C a 28°C.

### **Agradecimentos**

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de estudo.

## Referências Bibliográficas

- AMALIN, D. M.; PENA, J. E.; DUNCAN, R. E. Effects of host age, female parasitoid age, and host plant on parasitism of *Ceratogramma etiennei* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Florida Entomology** 88: 77-82. 2005.
- BAZZOCCHI, G.G., LANZONI, A.; BURGIO, G.; FIACCONI, M.R. Effects of temperature and host on the pre-imaginal development of the parasitoid *Diglyphus isaea* (Hymenoptera: Eulophidae). **Biology Control**, v.26, p.74-82, 2003.
- BITTENCOURT, M.A.L.; BERTI-FILHO, E. Desenvolvimento dos estágios imaturos de *Palmistichus elaeisis* Delvare e LaSalle (Hymenoptera, Eulophidae) em pupas de Lepidoptera. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.48, p.65-68, 2004.
- BOUCEK, Z. The African and Asiatic species of *Trichospilus* and *Cotterellia* (Hymenoptera, Eulophidae). **Bulletin Entomological Research**, v.65, p.669-681, 1976.
- BUENO, R.O.F.; PARRA, J.R.P.; BUENO, A.F. Biological characteristics and thermal requirements of a Brazilian strain of the parasitoid *Trichogramma pretiosum* reared on eggs of *Pseudoplusia includes* and *Anticarsia gemmatalis*. **Biological Control**. v. 51, p. 355-361, 2009.
- CARNEIRO, T.R.; FERNANDES, O.A.; CRUZ, I. Influência da competição intraespecífica entre fêmeas e da ausência de hospedeiro no parasitismo de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) sobre ovos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.53, p.482-486, 2009.
- FÁVERO, K. **Biologia e técnicas de criação de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) e *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)**. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS. 63p. 2009.
- FERREIRA, S.W.J.; BARROS, R.; TORRES, J.B. Exigências térmicas e estimativa do número de gerações de *Oomyzus sokolowskii* (Hurdjumov) (Hymenoptera: Eulophidae), para regiões produtoras de crucíferas em Pernambuco. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.32, p.407-411, 2003.
- GRANCE, E.L.V. **Potencial de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar**. Dissertação (Mestrado em Entomologia) Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS. 67p. 2010.
- HADDAD, M.L.; PARRA, J.R.P.; MORAES, R.C.B. **Métodos para estimar os limites térmicos inferior e superior de desenvolvimento de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1999. 29p.
- IHAKA, R.; GENTLEMAN, R. A language for data analysis and graphics. **Journal of Computational and Graphical Statistics**, v.5, p.299-314, 1996.

MATOS NETO, F.C.; CRUZ, I.; ZANUNCIO, J.C.; SILVA, C.H.O.; PIKANÇO, M.C. Parasitism by *Campoletis flavicincta* on *Spodoptera frugiperda* in corn. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.1077-1081, 2004.

PACHECO, D.J.P.; CORREA-FERREIRA, B.S. Potencial reprodutivo e longevidade do parasitoide *Telenomus podisi* Ashmead, em ovos de diferentes espécies de percevejos. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.27, p.585-591, 1998.

PARON, M. R. **Bioecologia de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Maragabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), endoparasitóide de Lepidoptera**. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior “Luis de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP. 53p. 1999.

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

PASTORI, P.L.; MONTEIRO, L.B.; BOTTON, M.; PRATISSOLI, D. Capacidade de Parasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em Ovos de *Bonagota salubricola* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) sob Diferentes Temperaturas. **Neotropical Entomology** v.36p.926-93, 2007.

PEREIRA, F.F.; BARROS R.; PRATISSOLI, D.; PARRA, J.R.P. Biologia e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley e *T. exiguum* Pinto & Planter (Hymenoptera: Trichogrammatidae) criados em ovos de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Neotropical Entomology**, v.33, p. 231-236, 2004.

PEREIRA, F.F.; BARROS, R.; PRATISSOLI, D.; PEREIRA, C.L.T. ;VIANNA, U.R.; ZANUNCIO, J. C. Capacidade de parasitismo de *Trichogramma exiguum* Pinto & Platner, 1978(Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) em diferentes temperaturas. **Ciência Rural**, v.37, 2007.

PEREIRA, F.F.; ZANUNCIO, J.C.; SERÃO, J.E.; PASTORI, P.L.; RAMALHO, F.S. Reproductive performance of *Palmistichus elaeisis* Delvare e La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) with previously refrigerated pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). **Brazilian Journal of Biology**, v.69, p.631-637, 2009.

PRATISSOLI, D.; PARRA J.R.P. Fertility life table of *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in eggs of *Tuta absoluta* (Lep.: Gelechiidae) at different temperatures. **Journal applied Entomology**, v.124, p.339-342, 2000.

PRATISSOLI, D.; REIS, E.F.; ZAGO, H.B.; PASTORI, P.L.; TAMANHONI, T. Biologia e exigências térmicas de cinco linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) criadas em ovos de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Ciência Rural**, v.36, p.1671–1677, 2006.

RODRIGUES, S.M.M.; BUENO, V.H.P.; SAMPAIO, M.V.; SOGLIA, M.D. de. Influência da temperatura no desenvolvimento e parasitismo de *Lysiphebus testaceipes* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae) em *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**, v.33, p.341-346, 2004.



RODRIGUES, W.C. Fatores que influenciam no desenvolvimento dos insetos. **Info Insetos**. v. 1, p. 1-4, 2004.

RODRIGUES, M.A.T. **Exigências térmicas e hídricas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)**.2010. 52f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS.

URBANEJA, A.; LLÁCER, E.; GARRIDO, A.; JACAS, J.A. Effect of temperature on the life history of *Cirrospilus* sp. near *Lyncus* (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). **Biological Control**, v.21, p.293-299. 2001.

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

WANG-DUN; BAI-YAOYU; ZAHANG-CHUANXI. A review on the nutritive value of silk worm pupae and its exploitation. **Entomological Knowledge**, v.41, p.418-421, 2004.

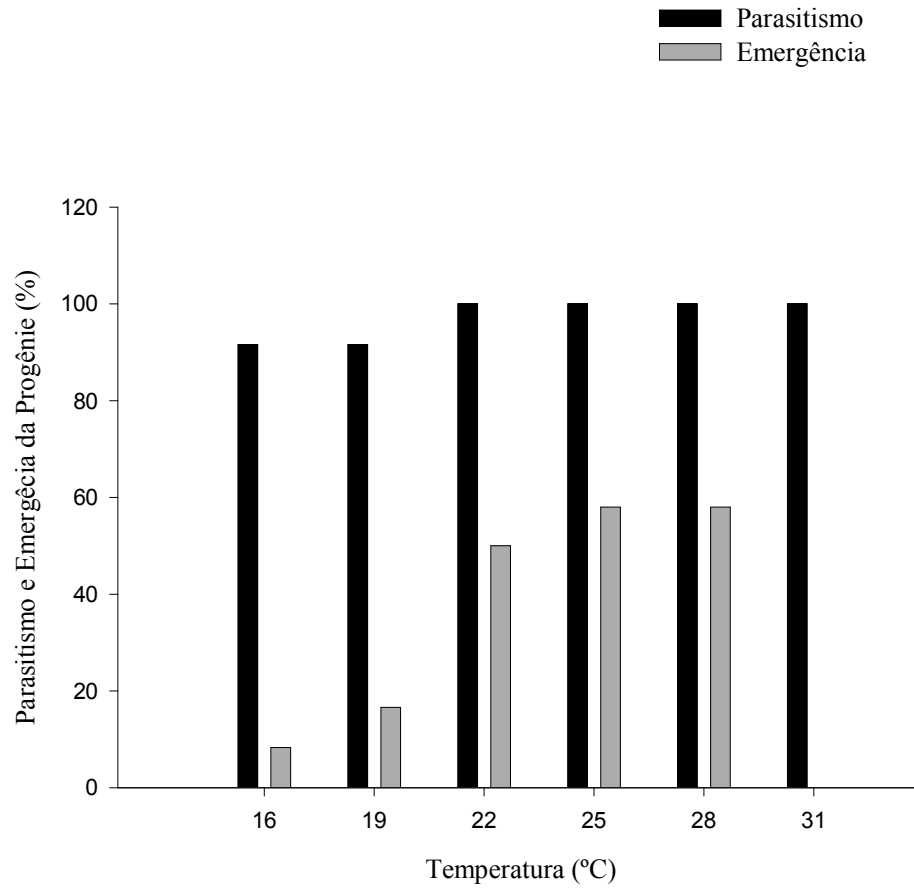


Figura 1 – Porcentagem de parasitismo e emergência de *Trichospilus diatraeae* por pupa de *Bombyx mori* em diferentes temperaturas 16, 22, 25, 28,31 °C, 70 ± 10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas. Parasitismo (P=0, 0042) Emergência (P=0, 0045).

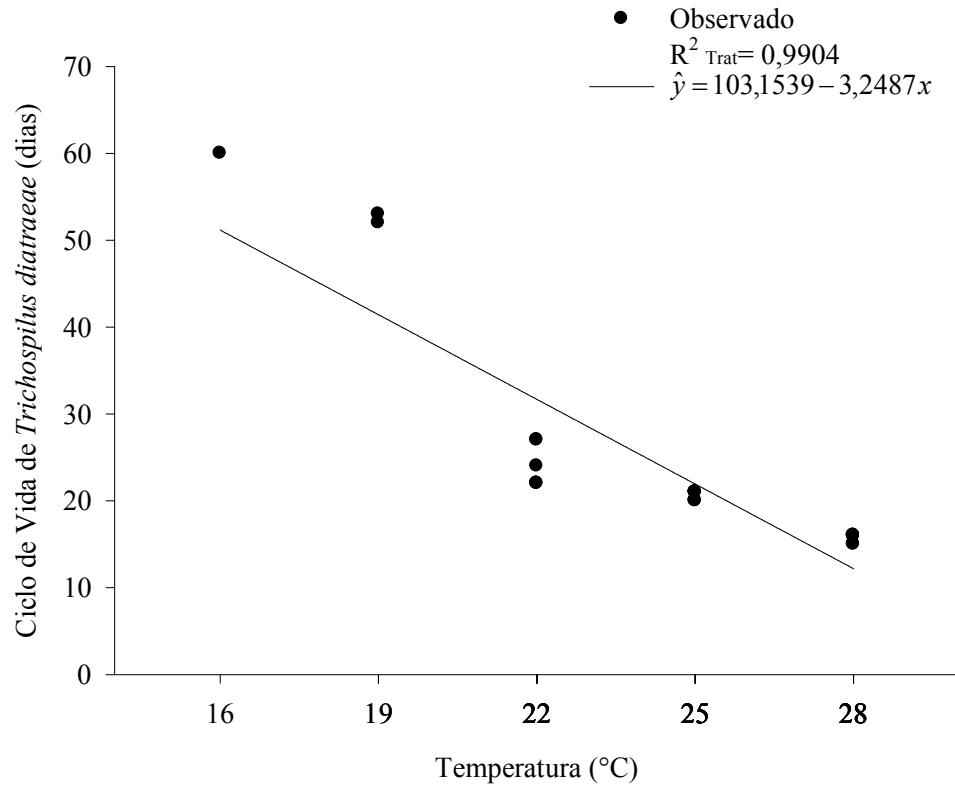


Figura 2 - Duração do Ciclo de Vida (Ovo-Adulto) de *Trichospilus diatraeae* por pupa de *Bombyx mori* em diferentes temperaturas 16, 22, 25, 28,31 °C, 70 ± 10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas (F=465, 223; P=<0,0001;  $R^2_{\text{Trat}}=0,9904$ ).

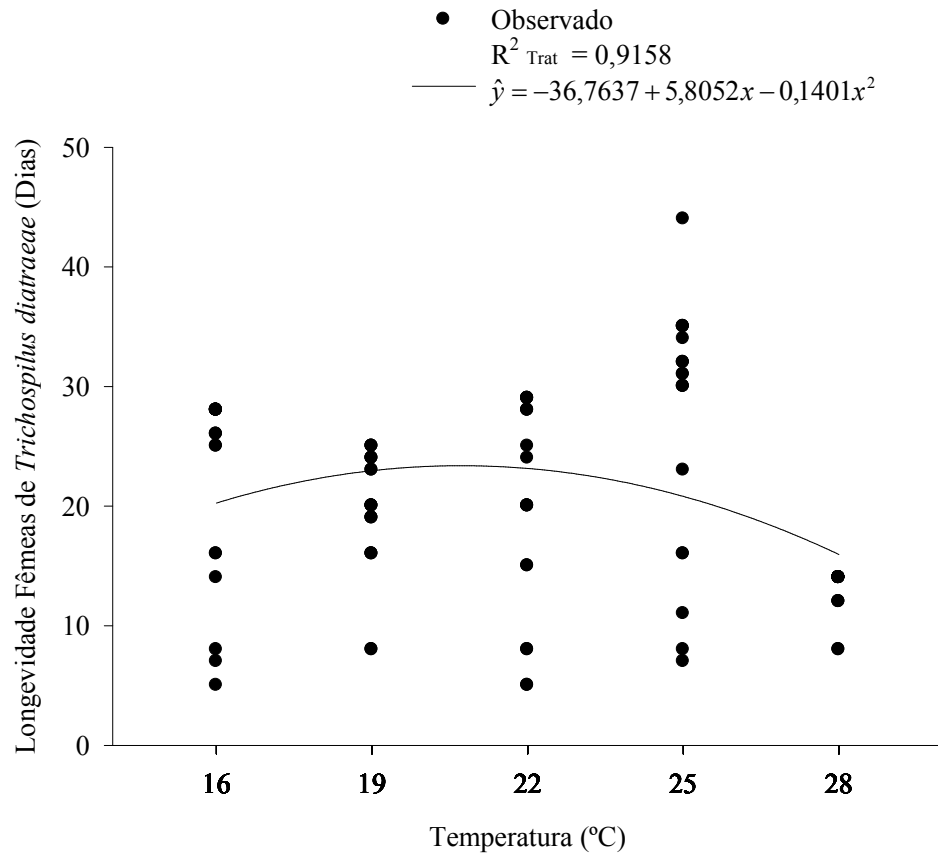


Figura 3 – Longevidade de Fêmeas (Dias) de *Trichospilus diatraeae* por pupa de *Bombyx mori* em diferentes temperaturas 16, 22, 25, 28,31 °C, 70 ± 10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas (F=4,945; P= 0,0009;  $R^2_{\text{Trat}}=0,9158$ ).

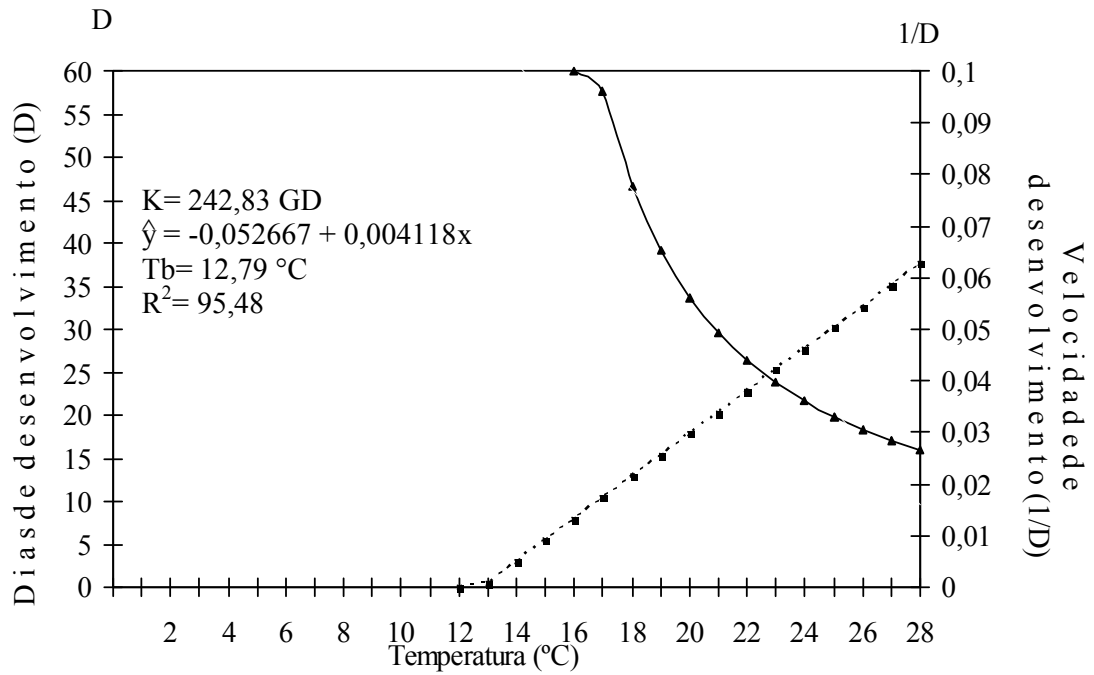


Figura 4 – Duração (dias) e velocidade de desenvolvimento de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) criado em pupa de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) em diferentes temperaturas. Umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas, mantidas constantes.

## CONCLUSÕES GERAIS

*Trichospilus diatraeae* apresentou desenvolvimento satisfatório em pupas de *B. mori* e de *D. saccharalis* em condições de laboratório.

*Trichospilus diatraeae* desenvolveu em pupas de *Bombyx mori* nas densidades 1:1, 14:1, 28:1, 56:1, 112:1 e 224:1, demonstrando adequabilidade do hospedeiro para o desenvolvimento desse parasitóide.

A densidade de 28 fêmeas de *T. diatraeae* por pupa de *B. mori* foi a mais adequada para criação desse parasitóide em laboratório.

*T. diatraeae* desenvolveu em pupas de *B. mori* com idades a partir de 48 horas, sendo que pupas com 24 horas de idade não foram apropriadas para o desenvolvimento do parasitóide.

Pupas de *B. mori* com idades de 72 a 120 horas proporcionaram maior produção de descendentes de *T. diatraeae*.

Os resultados obtidos neste trabalho mostraram que pupas de *B. mori* têm potencial como hospedeiro alternativo para a criação de *T. diatraeae*.

Esses resultados aumentaram as possibilidades de sucesso de criação em larga escala de *T. diatraeae* em laboratório, pois caso ocorrer problemas na criação do hospedeiro natural (*D. saccharalis*), o hospedeiro alternativo será utilizado para evitar perda da criação dos parasitóides até que a criação do hospedeiro natural seja reestabelecida.

Outras pesquisas a nível molecular relacionadas à diferença genética das espécies hospedeiras (susceptibilidade do hospedeiro ao parasitóide), além dos estudos de comportamento de busca e a possibilidade de associá-lo com outros parasitóides (ovo e larva), precisam ser realizadas, para que o potencial de *T. diatraeae* seja melhor aproveitado em programas de controle biológico.

