BIOLOGIA, ETOLOGIA E CAPACIDADE DE PARASITISMO DE
Trichogramma spp. VISANDO AO CONTROLE BIOLÓGICO DE
Spodoptera frugiperda (J. E. Smith, 1797).

EDUARDO BARBOSA BESERRA

Biólogo

Orientador Porf. Dr. José Roberto Postali Parra

Tese apresentada à Escola Superior de
Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de
São Paulo, para obtenção do título de Doutor em
Ciências, Área de Concentração: Entomologia

PIRACICABA

Estado de São Paulo – Brasil

Novembro - 2000

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luiz de Queiroz"/USP

Beserra, Eduardo Barbosa

Biologia, etologia e capacidade de parasitismo de *Trichogramma* spp.

visando ao controle biológico de *Spodoptera frugiperda* (L. Smith, 1797) /
Eduardo Barbosa Beserra. -- Piracicaba, 2000.
132 p. : il.

Tese (doutorado) -- Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2000.
Bibliografia.

1. Controle biológico 2. Dinâmica populacional 3. Inseto para controle
biológico 4. Inseto-parasitóide 5. Larga-do-cartucho 6. Linhagem 7. Milho 8.
Tricogramatideo I. Título

CDD 595.79

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Data de depósito junto à CPG/ESALQ

0

À Minha filha Taira.

Aos Meus pais Adequimar e Marluce.

Meus irmãos Lirson, Rosário e Luciana.

Aos meus sobrinhos Ana Paula, Ully e Felipe,

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual da Paraíba pela liberação e apoio recebido durante a realização do curso;

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, ESALQ/USP, pela oportunidade concedida;

Ao Dr. José Roberto Postali Parra, professor titular do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP, pela orientação, apoio e incentivos recebidos;

À CAPES/PICDT pela concessão de bolsa de estudos para a realização do curso de Pós- Graduação;

À Dr^a. Francisca Nemauro P. Haji, do Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Semi-Árido (CPATSA) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) Petrolina, PE, pelo fornecimento da colônia inicial de *Trichogramma atopovirilia*;

À Engenheira Agrônoma Ranise Barbosa Quirino, pela identificação das espécies de *Trichogramma*;

Ao professor Dr. Roberto A. Zucchi coordenador do laboratório de Taxonomia de Insetos da ESALQ/USP, pela colaboração na identificação das espécies de *Trichogramma*;

Ao Dr. Carlos Tadeu dos Santos Dias, professor Doutor do Departamento de Ciências Exatas da ESALQ/USP, pela colaboração na análise estatística dos resultados;

Aos professores do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP, pelos ensinamentos recebidos;

À Neide Graziano Zério, técnica de laboratório do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP, pela colaboração durante a realização dos trabalhos;

Ao Biólogo Heraldo Negri de Oliveira, técnico de laboratório do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP, pela realização das fotografias que ilustram esse trabalho;

À Bióloga Patrícia Milano, pelos desenhos esquemáticos utilizados na tese;

Ao Engenheiro Agrônomo Luis Fernando Sanglade Marchiori, diretor técnico da fazenda Areão pela colaboração na implementação do plantio de milho;

A todos os colegas e amigos do curso de Pós-graduação em Entomologia da ESALQ/USP, pela amizade e que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

Aos demais funcionários do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP, que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	xiii
RESUMO.....	xvi
SUMMARY.....	xviii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1 Aspectos ecológicos e etológicos de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith, 1797) e sua relação com a fenologia da planta hospedeira.....	4
2.1.1 Comportamento de oviposição de <i>S. frugiperda</i> e sua distribuição na planta hospedeira.....	6
2.2 Ocorrência de inimigos naturais de <i>S. frugiperda</i> , com ênfase aos parasitóides de ovos.....	8
2.3 Seleção de linhagens de <i>Trichogramma</i> para uso no controle biológico.....	13
2.4 Comportamento de parasitismo de <i>Trichogramma</i> spp.....	21
2.4.1 Descrição geral.....	21
2.4.2 Avaliação do hospedeiro.....	23
2.4.3 Aprendizado em <i>Trichogramma</i>	27
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	30

3.1	Obtenção e criação das populações de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith, 1797) e <i>Trichogramma</i> spp.....	30
3.1.1	<i>S. frugiperda</i>	30
3.1.2	<i>Trichogramma</i> spp.....	31
3.2	Distribuição de posturas e parasitismo natural de ovos de <i>S. frugiperda</i> em diferentes estágios fenológicos do milho.....	32
3.2.1	Distribuição espacial e temporal de posturas de <i>S. frugiperda</i>	32
3.2.2	Parasitismo natural por <i>Trichogramma</i> spp.....	33
3.2.3	Análise estatística.....	34
3.3	Seleção de linhagens de <i>T. pretiosum</i>	35
3.3.1	Biologia em ovos de <i>S. frugiperda</i>	35
3.3.2	Preferência hospedeira para oviposição: ovos de <i>S. frugiperda</i> X ovos de <i>A. kuehniella</i>	37
3.3.3	Análise estatística.....	37
3.4	Biologia, capacidade de parasitismo e preferência hospedeira: ovos de <i>S. frugiperda</i> X ovos de <i>A. kuehniella</i> , de <i>T. atopovirilia</i> e <i>T. pretiosum</i>	38
3.4.1	Biologia em ovos de <i>S. frugiperda</i>	39
3.4.2	Capacidade de parasitismo.....	39
3.4.3	Preferência hospedeira para oviposição: ovos de <i>S. frugiperda</i> X ovos de <i>A. kuehniella</i>	42
3.4.4	Análise estatística.....	42
3.5	Comportamento de oviposição de <i>T. atopovirilia</i> e <i>T. pretiosum</i> em posturas de <i>S. frugiperda</i> com diferentes barreiras físicas.....	43

3.5.1	Análise estatística.....	45
3.6	Capacidade de parasitismo de <i>T. atopovirilia</i> em telado.....	45
3.6.1	Análise estatística.....	47
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
4.1	Distribuição de posturas e parasitismo natural de ovos de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith, 1797) em diferentes estágios fenológicos do milho.....	48
4.1.1	Distribuição espacial e temporal de posturas de <i>S. frugiperda</i>	48
4.1.2	Parasitismo natural por <i>Trichogramma</i> spp.....	54
4.2	Seleção de linhagens de <i>T. pretiosum</i>	61
4.2.1	Biologia em ovos de <i>S. frugiperda</i>	61
4.2.2	Preferência hospedeira para oviposição: ovos de <i>S. frugiperda</i> X <i>A. kuehniella</i>	67
4.3	Biologia, capacidade de parasitismo e preferência hospedeira: ovos de <i>S. frugiperda</i> X <i>A. kuehniella</i> , de <i>T. atopovirilia</i> e <i>T. pretiosum</i>	69
4.3.1	Biologia em ovos de <i>S. frugiperda</i>	69
4.3.2	Capacidade de parasitismo.....	73
4.3.3	Preferência hospedeira para oviposição: ovos de <i>S. frugiperda</i> X <i>A. kuehniella</i>	80
4.4	Comportamento de parasitismo de <i>T. pretiosum</i> e <i>T. atopovirilia</i> em posturas de <i>S. frugiperda</i> com diferentes barreiras físicas.....	83
4.4.1	Descrição geral.....	83
4.4.2	Efeito das barreiras físicas das posturas de <i>S. frugiperda</i> no comportamento de <i>T. atopovirilia</i> e <i>T. pretiosum</i>	92

4.5	Capacidade de parasitismo de <i>T. atopovirilia</i> em telado.....	101
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	104
6	CONCLUSÕES.....	108
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	111

LISTA DE FIGURAS

	Página
1 Tubo de vidro contendo dieta artificial utilizada na criação de <i>Spodoptera frugiperda</i>	31
2 Esquema de amostragem de posturas para estudo do comportamento de oviposição de <i>Spodoptera frugiperda</i> e do parasitismo natural por <i>Trichogramma</i> spp. O conjunto de retângulos em "X" indica o ponto de amostragem e cada retângulo representa um grupo de 5 plantas amostrado dentro deste ponto.....	34
3 Tubo de criação e cartela contendo ovos de <i>Spodoptera frugiperda</i> utilizados no estudo do desenvolvimento das linhagens de <i>Trichogramma pretiosum</i>	36
4 Arena utilizada para avaliar a preferência hospedeira de <i>Trichogramma pretiosum</i> , entre ovos de <i>Spodoptera frugiperda</i> e <i>Anagasta kuehniella</i> , no interior de tubos de vidro de 8,5 X 2,5 cm.....	38

5	Posturas de <i>Spodoptera frugiperda</i> com diferentes características físicas: A) uma camada de ovos sem escamas; B) duas camadas de ovos sem escamas; C) uma camada de ovos e baixa densidade de escamas; D) uma camada de ovos e alta densidade de escamas.....	40
6	Comprimento da tíbia posterior (A) e do ovipositor (B) de <i>Trichogramma</i> spp. (aumento de 500 vezes).....	41
7	Conjunto utilizado no estudo do comportamento de parasitismo de <i>Trichogramma atopovirilia</i> e <i>Trichogramma pretiosum</i> . A) câmera filmadora acoplada ao microscópio estereoscópico; B) monitor de vídeo; C) vídeo cassete; D) iluminador de fibra óptica.....	44
8	A) Gaiola utilizada para avaliação da capacidade de parasitismo de <i>Trichogramma atopovirilia</i> em telado; B) Distribuição das plantas de milho na gaiola; C) Posição da postura de <i>Spodoptera frugiperda</i> na planta e local de liberação de <i>T. atopovirilia</i>	46
9	Espécies de <i>Trichogramma</i> coletadas em posturas de <i>Spodoptera frugiperda</i> na fazenda Areão, Piracicaba, SP, durante o período agrícola de 1998 a 2000.....	60
10	Fenograma das linhagens de <i>Trichogramma pretiosum</i> , coletadas na região de Piracicaba, sobre ovos do hospedeiro natural <i>Spodoptera frugiperda</i> , resultante da análise de agrupamento realizada com base nos parâmetros biológicos avaliados (duração do período ovo-adulto, porcentagem de emergência, número de ovos parasitados, porcentagem de parasitismo, longevidade, número de adultos emergidos/hospedeiro e razão sexual).....	66

- 11 Frequência média de contactos de fêmeas de três linhagens de *Trichogramma pretiosum* durante 45 min, sobre ovos de *Spodoptera frugiperda* e *Anagasta kuehniella* ($\chi^2= 9,79$, $P= 0,007$). Temperatura de $25,0 \pm 2,0$ e U.R. $70 \pm 10\%$ 68
- 12 Correlação entre o comprimento (mm) da tíbia posterior e do ovipositor de duas espécies de *Trichogramma*. (A) *Trichogramma atopovirilia* e (B) *Trichogramma pretiosum*, criadas em ovos de *Spodoptera frugiperda*. (C) *Trichogramma atopovirilia* e (D) *Trichogramma pretiosum*, criadas em ovos de *Anagasta kuehniella*. Temperatura de $25 \pm 2,0$ °C, U.R. $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas..... 78
- 13 Preferência de *Trichogramma atopovirilia* e *Trichogramma pretiosum* durante 45 min, sobre ovos de *Spodoptera frugiperda* e *Anagasta kuehniella*. Temperatura de $25,0 \pm 2,0$ °C e U.R. de $70 \pm 10\%$ (A) Frequência média de contactos ($\chi^2= 6,87$, $P=0,09$). (B) número médio de ovos parasitados ($\chi^2= 2,15$, $P= 0,14$)..... 81
- 14 Comportamento de parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* em ovo de *Spodoptera frugiperda*: exame externo (A); penetração do ovipositor e reconhecimento interno (B e C); oviposição (D); marcação (E) e alimentação (F)..... 84
- 15 Variação no tempo (segundos) em cada etapa do comportamento de parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* (A) e *Trichogramma pretiosum* (B) de acordo com a seqüência de ovos parasitados de *Spodoptera frugiperda*. Símbolos em cada linha seguidos de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P<0,05$)..... 91

- 16 Correlação entre o tempo de permanência da fêmea sobre a postura de *Spodoptera frugiperda* e o número de ovos parasitados. Tempo de observação de 20 min. (A) *Trichogramma atopovirilia*. (B) *Trichogramma pretiosum*..... 97
- 17 Correlação entre o intervalo de tempo percorrido entre ovos parasitados e o número de ovos parasitados em posturas de *Spodoptera frugiperda*. Tempo de observação de 20 min. (A) *Trichogramma atopovirilia*. (B) *Trichogramma pretiosum*..... 100

LISTA DE TABELAS

	Página
1 Distribuição de posturas de <i>Spodoptera frugiperda</i> na planta de milho, em diferentes estágios fenológicos, durante o período agrícola de 1998 a 2000 em Piracicaba, SP.....	49
2 Número de posturas, de ovos, e de posturas com diferentes camadas (I, II, III, >IV), de <i>Spodoptera frugiperda</i> em diferentes estágios fenológicos do milho, durante o período agrícola de 1998 a 2000 em Piracicaba, SP.....	52
3 Número e porcentagem médios de posturas de <i>Spodoptera frugiperda</i> parasitados por <i>Trichogramma</i> spp. em três estágios fenológicos da planta de milho, durante o período agrícola de 1998 a 2000 em Piracicaba, SP.....	55
4 Número e porcentagem médios de posturas de <i>Spodoptera frugiperda</i> parasitados por <i>Trichogramma</i> spp. em três regiões da planta de milho, durante o período agrícola de 1998 a 2000 em Piracicaba, SP.....	56
5 Parasitismo de ovos de <i>Spodoptera frugiperda</i> por <i>Trichogramma</i> spp, em diferentes estágios fenológicos do milho, durante o período agrícola de 1998 a 2000 em Piracicaba, SP.....	56

6	Duração (dias) do período ovo-adulto, porcentagem de emergência, número de ovos parasitados e porcentagem de parasitismo de diferentes linhagens de <i>Trichogramma pretiosum</i> mantidas em ovos isolados de <i>Spodoptera frugiperda</i> . Temperatura de $25,0 \pm 2,0$ °C, U.R. $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas.....	62
7	Longevidade, número de adultos emergidos/hospedeiro e razão sexual de diferentes linhagens de <i>Trichogramma pretiosum</i> mantidas em ovos isolados de <i>Spodoptera frugiperda</i> . Temperatura de $25,0 \pm 2,0$ °C, U.R. $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas.....	63
8	Parâmetros biológicos de <i>Trichogramma atopovirilia</i> e <i>Trichogramma pretiosum</i> em ovos de <i>Spodoptera frugiperda</i> . Temperatura $25,0 \pm 2$ °C, U.R. $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas.....	70
9	Capacidade de parasitismo de <i>Trichogramma atopovirilia</i> e <i>Trichogramma pretiosum</i> em posturas de <i>Spodoptera frugiperda</i> com diferentes características físicas, em laboratório. Temperatura de $25,0 \pm 2,0$ °C, U.R. $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas.....	74
10	Comprimento (mm) da tíbia posterior e do ovipositor de <i>Trichogramma atopovirilia</i> e <i>Trichogramma pretiosum</i> criadas em ovos de <i>Spodoptera frugiperda</i> e <i>Anagasta kuehniella</i> . Temperatura de $25,0 \pm 2,0$ °C, U.R. $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas.....	77
11	Redução (%) no tempo (segundos) gasto durante o reconhecimento externo do ovo de <i>Spodoptera frugiperda</i> por <i>Trichogramma atopovirilia</i> e <i>Trichogramma pretiosum</i> quando da avaliação de um ovo já parasitado.....	87

12	Redução (%) no tempo (segundos) gasto durante a penetração do ovipositor e reconhecimento interno, e marcação do ovo de <i>Spodoptera frugiperda</i> parasitado por <i>Trichogramma atopovirilia</i> quando da avaliação de um ovo já parasitado.....	87
13	Redução (%) no tempo (segundos) gasto durante a penetração do ovipositor e reconhecimento interno, e marcação do ovo de <i>Spodoptera frugiperda</i> parasitado por <i>Trichogramma pretiosum</i> quando da avaliação de um ovo já parasitado.....	88
14	Duração (s) de cada etapa de comportamento de <i>Trichogramma atopovirilia</i> e <i>Trichogramma pretiosum</i> em posturas de <i>Spodoptera frugiperda</i> com diferentes características físicas. Tempo de observação: 20 minutos.....	93
15	Tempo (s) de permanência da fêmea sobre a postura, intervalo de tempo Decorrido entre ovos parasitados e número de ovos parasitados por <i>Trichogramma atopovirilia</i> e <i>Trichogramma pretiosum</i> em posturas de <i>Spodoptera frugiperda</i> com diferentes características físicas. Tempo de observação: 20 min.....	94
16	Capacidade de parasitismo de <i>Trichogramma atopovirilia</i> sobre posturas de <i>Spodoptera frugiperda</i> com diferentes características físicas, em telado.....	103

BIOLOGIA, ETOLOGIA E CAPACIDADE DE PARASITISMO DE
***Trichogramma* spp. VISANDO AO CONTROLE BIOLÓGICO DE**
***Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797)**

Autor: EDUARDO BARBOSA BESERRA

Orientador: Prof. Dr. JOSÉ ROBERTO POSTALI PARRA

RESUMO

Com o objetivo de se avaliar o potencial de utilização de *Trichogramma* spp. para o controle biológico de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797), foram conduzidos experimentos, procurando-se estudar o comportamento de oviposição da praga e o parasitismo natural por *Trichogramma* spp. com relação a diferentes estágios fenológicos do milho, em condições de campo. Em laboratório, foram comparados aspectos biológicos e etológicos de *Trichogramma atopovirilia* Oltman & Platner, 1983 e *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879. *S. frugiperda* colocou ovos durante todo o desenvolvimento vegetativo do milho. Porém, constatou-se que em condições de campo, a distribuição das posturas de *S. frugiperda* variou em função do estágio fenológico do milho, sendo que o local preferido para oviposição nos estágios iniciais de desenvolvimento da cultura (4-6 folhas), foi modificado, da região inferior da planta e superfície abaxial da folha, para as regiões média e superior e superfície adaxial da folha, nos estágios subseqüentes (8-10 e 12-14 folhas). Maior quantidade de posturas e, conseqüentemente, de ovos foi coletada nos estágios de 4-6 e 8-10 folhas, sendo que, independente do estágio fenológico do milho, as posturas apresentaram, na sua maioria, um número

superior a uma camada, usualmente três, e cobertas por escamas. O parasitismo natural foi bastante reduzido e constante em todos os estágios de desenvolvimento do milho concentrando-se, principalmente, nas regiões inferior e média da planta, com um máximo de 2,21% de ovos parasitados, sendo que *T. pretiosum* foi a espécie mais abundante, com 93,79% das espécies coletadas, seguida de *T. atopovirilia* com 2,07%. Os estudos de seleção de linhagens mostraram uma grande variação no desempenho das linhagens de *T. pretiosum* com relação à adequação e preferência a ovos de *S. frugiperda*, sendo que as linhagens Lsg₁₁ e Lsg₁₈ tiveram melhor desempenho biológico, maior preferência ao hospedeiro natural e capacidade de parasitismo, em ovos de *S. frugiperda*. Tanto *T. atopovirilia* como *T. pretiosum* apresentaram bom desempenho biológico e mostraram-se adaptadas a ovos de *S. frugiperda* mesmo após serem criadas por várias gerações em *A. kuehniella*, embora *T. atopovirilia* tenha sido mais agressiva à praga. Fêmeas de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* apresentaram o mesmo tamanho quando criadas em ovos de *A. kuehniella*, porém, quando criadas em *S. frugiperda* fêmeas de *T. pretiosum* foram maiores. A presença de escamas sobre a postura de *S. frugiperda* diminuiu o número de ovos parasitados e afetou o comportamento de ambas as espécies, pois aumentou o tempo gasto em cada etapa do comportamento de parasitismo, o tempo de deslocamento da fêmea na postura após o término de uma oviposição, e diminuiu o tempo em que a fêmea permaneceu parasitando sobre a mesma. Em telado, constatou-se que com o aumento no número de camadas de ovos sobre a postura de *S. frugiperda*, houve uma diminuição na capacidade de parasitismo de *T. atopovirilia*. Assim, pode-se concluir que o parasitismo por *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* é afetado pelas barreiras físicas das posturas de *S. frugiperda*, o que pode levar a uma diminuição da performance do parasitóide em campo.

**BIOLOGY, ETHOLOGY AND PARASITISM CAPACITY OF
Trichogramma spp. VIEWING THE BIOLOGICAL CONTROL OF
Spodoptera frugiperda (J. E. Smith, 1797)**

Author: EDUARDO BARBOSA BESERRA

Adviser: Prof. Dr. JOSÉ ROBERTO POSTALI PARRA

SUMMARY

In order to evaluate the potential use of *Trichogramma* spp. in the biological control of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797), experiments were carried out in an effort to study the oviposition behavior of the pest and natural parasitism by *Trichogramma* spp. in regards to different phenological stages of corn under field conditions. Under laboratory conditions, biological and ethologic aspects of *Trichogramma atopovirilia* Oltman & Platner, 1983 and *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 were compared. The *S. frugiperda* laid eggs throughout the vegetative development of the corn. Under field conditions, however, the egg-laying distribution of *S. frugiperda* varied according to the phenological stage of the corn, and preferential oviposition site at the early stages of the crop development (4-6 leaves) was changed, from the lower part of the plant and abaxial surface of the leaf, to the middle and upper regions and abaxial surface of the leaf at the following stages (8-10 and 12-14 leaves). A higher amount of egg laying and, accordingly, eggs was collected at 4-6 and 8-10 leaf stages and regardless of the phenological stage of the corn, most egg laying had more than one layer, usually three, covered by scales. The natural parasitism was quite reduced and constant in all development stages of the corn and was mainly concentrated at the lower and middle parts of the plant, with a maximum of 2.21% eggs parasitized, with *T. pretiosum* as the most abundant

(93,73%) among the collected species, followed by *T. atopovirilia* (2.07%). The studies on strain selections showed a wide range regarding performance in *T. pretiosum* strains as to adequacy and preference to *S. frugiperda* eggs, and strains Lsg₁₁ and Lsg₁₈ had better biological performance, higher preference to the natural host and parasitism capacity in *S. frugiperda* eggs than the remaining ones. Both *T. atopovirilia* and *T. pretiosum* had a good biological performance and were adapted to *S. frugiperda* eggs even after being reared on *A. kuehniella* for several generations, although *T. atopovirilia* was more aggressive towards the pest. *T. atopovirilia* and *T. pretiosum* females had the same size when reared on *A. kuehniella* eggs, however, when reared on *S. frugiperda* the *T. pretiosum* females were bigger than the *T. atopovirilia* ones. The presence of scales on eggs laid by *S. frugiperda* decreased the number of parasitized eggs and affected the behavior of both species, since the time spent on each stage of the parasitism behavior increased, the female moving time at egg laying after the end of an oviposition increased, and the time in which the female remained parasitizing on the eggs decreased. Under greenhouse, an increased number of egg layers on the eggs laid by *S. frugiperda* was observed, with a decreased parasitism capacity of *T. atopovirilia*. Thus, one infers that the parasitism by *T. atopovirilia* and *T. pretiosum* is affected by the physical barriers of *S. frugiperda*, which may lead to a decreased performance of the parasitoid in the field.

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae) é composto por espécies polípagas que ocorrem nas zonas geográficas temperadas e em regiões tropicais e subtropicais do mundo, atacando diversas culturas. Tais espécies ocorrem no sul dos EUA, na América Central e do Sul, sendo que no Brasil, especialmente nas regiões onde se cultiva o milho, a espécie *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) é uma praga de grande importância econômica, não só para a cultura mencionada como também para um grande número de outras espécies (Bertels, 1970).

Em condições climáticas favoráveis, sua população pode aumentar, atingindo proporções epidêmicas, causando consideráveis perdas na massa foliar (Pencoe & Martim, 1981), que poderão refletir no desenvolvimento da planta e na produção de grãos pelo milho. Nas regiões tropicais, em termos médios, os danos causados pela lagarta do cartucho, podem representar 60% de perdas no rendimento dos grãos (Cruz, 1992), enquanto no Brasil, as perdas na produção podem chegar a 34% (Carvalho, 1970; Carnevalli & Florcovski, 1995). Os danos maiores ocorrem quando a planta se encontra no estágio de oito a dez folhas, levando a uma redução de até 19% na produção, sendo que nos estágios abaixo de 6 ou acima de 12 folhas, seus danos são inferiores a 9% (Cruz & Turpin, 1982).

Devido aos danos causados pelo ataque de *S. frugiperda* é necessária a adoção de medidas de controle que, geralmente, ocorrem mediante a aplicação de inseticidas que, em muitos casos, não solucionam o problema (Cortez & Trujillo, 1994). Entre as dificuldades para o controle químico dessa praga, destaca-se a localização das lagartas dentro do cartucho do milho, que dificulta o seu contato com o inseticida, e a possibilidade de resurgência da praga devido à morte de seus inimigos naturais (Gassen, 1996). Dessa forma, é desejável um programa de controle envolvendo inimigos naturais com potencial para regular a população da praga, mantendo-a abaixo do nível de dano econômico e, que diminuam o impacto do uso de inseticidas sobre o meio ambiente.

Portanto, uma alternativa ao controle de *S. frugiperda* é a utilização de inimigos naturais, como os parasitóides de ovos do gênero *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae), que são produzidos de forma simples e a baixo custo, se comparados aos parasitóides larvais (Sifontes et al., 1988), além da vantagem de reduzirem a população da praga na fase de ovo, antes que algum dano seja causado à cultura (Botelho et al., 1995). No entanto, o seu uso para o controle de *S. frugiperda* tornou-se um desafio aos especialistas em controle biológico, já que a sua eficiência é questionada devido às características físicas das posturas dessa praga, distribuídas em camadas sobrepostas e cobertas com escamas, o que dificulta o parasitismo (Toonders & Sánchez, 1987; Cortez & Trujillo, 1994).

O comportamento de oviposição e as características das posturas de *S. frugiperda* podem sofrer variações em função do tipo e estágio fenológico do hospedeiro (Pitre et al., 1983; Sifontes et al., 1988; Ali et al., 1989, 1990; Gutiérrez-Martínez et al., 1989; Meneses et al., 1991; Labatte, 1993; Pashley et al., 1995), e estas variações poderão influenciar o comportamento de parasitismo de *Trichogramma* e sua eficiência no controle da praga, já que segundo Romeis et al. (1998, 1999) a eficiência de *Trichogramma* em parasitar o ovo hospedeiro irá

depende da espécie e características da planta, disponibilidade dos ovos e de sua distribuição em diferentes estruturas da planta hospedeira.

Portanto, devido à presença e aos danos causados por *S. frugiperda* nos diferentes estágios de desenvolvimento da cultura do milho, e à necessidade de se encontrar uma alternativa ao controle dessa praga, o objetivo desta pesquisa foi avaliar o potencial de utilização de *Trichogramma* spp. como agente de controle biológico de *S. frugiperda*. Para tanto, estudou-se o comportamento de oviposição de *S. frugiperda* e o parasitismo natural por *Trichogramma* spp. nos diferentes estágios fenológicos do milho, bem como, avaliou-se a adequação dos ovos da praga ao desenvolvimento do inimigo natural e o impacto das barreiras físicas das posturas de *S. frugiperda* sobre o comportamento e capacidade de parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 e *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879, parasitóides freqüentes desta praga.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos ecológicos e etológicos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) e sua relação com a fenologia da planta hospedeira

S. frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae) é uma espécie nativa em regiões de clima quente da América do Norte, e nos trópicos das Américas Central e do Sul e das Antilhas (Bertels, 1970; Pedigo, 1987). No Brasil é uma espécie comum nas regiões de plantações do milho (*Zea mays*) e arroz (*Oryza sativa*), nas quais representa uma praga de grande importância econômica (Bertels, 1970). Preferem, em geral, plantas da família das gramíneas (Pitre et al., 1983), porém, como inseto polífago, ataca diversas culturas, destacando-se o arroz, a cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*), o algodão (*Gossypium hirsutum*), o amendoim (*Arachis hypogaea*), o sorgo (*Sorghum bicolor*) e, principalmente, o milho (Barfield et al., 1980; Pitre et al., 1983; Sifontes et al., 1988; Pedigo, 1989; Cruz et al., 1999) onde é considerada a praga chave.

Segundo estudos feitos na Carolina do Norte, E.U.A, por Hunt (1980), o estabelecimento inicial das populações de *S. frugiperda* se concentra em gramíneas como, milho, gramas das bermudas (*Cynodon dactylon*), e outras, consideradas invasoras, podendo, ainda, ocorrer infestações em não gramíneas como alfafa (*Medicago sativa*), amendoim e o algodão. Frequentemente, os insetos preferem as folhas jovens em relação às mais velhas,

(Harrison, 1984; Hoy & Shelton, 1987) sendo a idade da planta, um fator que influencia na sua distribuição e no seu desenvolvimento.

A alimentação das lagartas ocorre em qualquer período do dia ou da noite, com maior atividade no início da manhã e ao entardecer (Cruz, 1995). No milho as lagartas maiores perfuram as folhas e se desenvolvem no cartucho, podendo, ainda, broquear a base da planta e atacar a espiga (Gassen, 1996), onde buscam abrigo e se desenvolvem, tornando-se, em algumas regiões do Brasil, uma praga tão importante quanto a lagarta-da-espiga, *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae). Este comportamento é freqüente, principalmente, em regiões tropicais onde se planta o milho o ano todo (Parra et al., 1995; Gassen, 1996).

Variações morfológicas e fisiológicas ocorrem com o desenvolvimento e maturação das plantas sendo, que nos diferentes estágios de crescimento elas podem ser mais atrativas aos adultos ou adequadas ao estabelecimento e desenvolvimento larval do inseto. Levantamentos em plantios de soja (*Glycine max*) feitos por Pansera-de-Araújo et al. (1999) mostraram que a distribuição de ovos para algumas espécies de Noctuidae diferem com relação à região da planta e espécie de inseto sendo, que *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera latifascia* ovipositaram mais na região média da planta, enquanto que *Rachiplusia nu* preferiu a região superior e *Pseudoplusia includens* a parte inferior. Com relação a *S. frugiperda*, a distribuição das posturas, de acordo com a região da planta, estágio fenológico e espécie de hospedeiro, tem implicações na sobrevivência da sua prole (Pitre et al., 1983), já que o seu ciclo de vida pode ser alterado em função da espécie, do estágio fenológico e da qualidade nutricional do hospedeiro, de forma que, para a adoção de uma estratégia de manejo adequado da praga, deve-se considerar a qualidade nutricional (Ali et al., 1990) e o estágio fenológico da planta relacionando-os ao desenvolvimento do inseto (Barfield et al., 1980).

2.1.1. Comportamento de oviposição de *S. frugiperda* e sua distribuição na planta hospedeira

Vários estudos demonstraram as alterações no padrão de oviposição e distribuição de *S. frugiperda* em função do estágio fenológico, qualidade e tipo de planta hospedeira (Pitre et al., 1983; Sifontes et al., 1988; Ali et al., 1989 e 1990; Gutiérrez-Martínez et al., 1989; Meneses et al., 1991; Labatte, 1993; Pashley et al., 1995). Em milho, as primeiras gerações da praga, ocorrem nos estágios iniciais da cultura, logo após a emergência da planta, quando adultos migrantes de cultivos anteriores e de outras plantas hospedeiras, se estabelecem e fazem as primeiras oviposições. A partir deste estágio a população tende a aumentar, diminuindo sua densidade nas últimas gerações, que ocorrem entre os 50 e 72 dias após a emergência (Gutiérrez-Martínez et al., 1989). Observações feitas por Ali et al. (1989) em algodão; e Sifontes et al. (1988) e Meneses et al. (1991) em arroz, mostraram que o comportamento de oviposição e, conseqüentemente, a distribuição das posturas de *S. frugiperda* na planta hospedeira se dá em regiões da planta selecionadas de acordo com o estágio fenológico da cultura, podendo se concentrar nas regiões, inferior, média e superior da planta e em diferentes partes das folhas e estruturas de frutificação.

Neste sentido, e em função da espécie e do estágio fenológico da planta, podem ocorrer alterações nas características físicas das posturas como número de camadas e de ovos, e densidade de escamas. Estas alterações, podem estar associadas ao estado nutricional, como conseqüência das alterações fisiológicas ocorridas nos diferentes estágios de desenvolvimento da planta. Estudos feitos por Pitre et al. (1983) para avaliar a preferência de *S. frugiperda* em ovipositar em diferentes espécies e idades de plantas (22, 32, 42, 54 e 64 dias), mostraram que o maior número de posturas e de ovos foram realizados em gramíneas, e dentro da espécie, em plantas mais velhas. Este último resultado é conseqüência da

metodologia empregada, utilizando-se teste de múltipla escolha, com plantas em diferentes idades confinadas em gaiolas. Dessa forma, a maior cobertura vegetal das plantas mais velhas, fornecendo maior proteção e área superficial para oviposição, favoreceu a permanência das fêmeas por um período de tempo maior, aumentando o número de oviposições sobre as mesmas.

Observações de Meneses et al. (1991) sobre o comportamento de *S. frugiperda* em arroz, revelaram que a preferência para oviposição se deu em relação à região e superfície da folha, com maior preferência pelas regiões média e apical, e superfície inferior. Em geral, as posturas apresentavam-se com mais de uma camada, comumente, duas e três, com média de 385,6 ovos. Sifontes et al. (1988) verificaram que *S. frugiperda* realizou maior número de posturas na superfície inferior e região média da folha e que, com o aumento da idade do arroz, na faixa de 10 a 23 dias, estas apresentaram maior densidade de escamas, número de camadas e de ovos. Em plantios de algodão, Ali et al. (1989) demonstraram que a oviposição por *S. frugiperda* se dá em todos os estágios fenológicos, sendo, as regiões inferior e média da planta, e a superfície inferior das folhas o local preferido, com 92,4% das posturas; constataram ainda, que o número de ovos por postura variou em função da estrutura da planta, com maior número de ovos nas posturas localizadas sobre a superfície superior das folhas. As folhas também foram o local preferido para alimentação das lagartas sendo que, com o desenvolvimento da planta, as lagartas de instares mais avançados passaram a se alimentar das estruturas de frutificação, as quais muitas vezes, tornaram-se o principal local de alimentação (Ali et al., 1990). Segundo Labatte (1993), a distribuição de lagartas de *S. frugiperda* nas folhas, permanece constante durante todo o estágio de desenvolvimento vegetativo do milho até o pendão tornar-se visível. Após o pendramento, muitas lagartas se deslocam para as folhas mais baixas e para a espiga, onde encontram abrigo

nessas áreas mais protegidas, o que dificulta a implementação de medidas de controle.

Assim, a compreensão das relações naturais entre a biologia de *S. frugiperda*, considerando aí, os aspectos ecológicos e etológicos; o desenvolvimento fenológico do milho e fatores ambientais é essencial para que se possa entender a dinâmica da interação inseto-planta (Labatte, 1993), e com isto, implementar estratégias adequadas de manejo de praga.

2.2. Ocorrência de inimigos naturais de *S. frugiperda*, com ênfase aos parasitóides de ovos

Uma diversidade de inimigos naturais, parasitóides, predadores e patógenos é encontrada na cultura do milho atacando os diferentes estágios de desenvolvimento de *S. frugiperda*, exercendo um eficiente papel na regulação das populações desse Noctuidae (Ashley, 1979; Patel & Habib, 1986; Pair et al., 1986). Ashley (1979) relatou a ocorrência de 53 espécies, 43 gêneros e 19 famílias de parasitóides que utilizam essa praga como hospedeiro. Nas Américas, as famílias Braconidae, Ichneumonidae e Tachinidae, englobam 16, 19, e 47% dos gêneros, respectivamente (Silva et al., 1997). No entanto, a maioria dos registros, refere-se aos parasitóides larvais ou pupais, como por exemplo, as espécies dos gêneros *Chelonus* (Hymenoptera: Braconidae) parasitóide ovo-larva; *Archytas* (Diptera: Tachinidae), parasitóide larva-pupa; *Campoletis* (Hymenoptera: Ichneumonidae) e *Lespesia* (Diptera: Tachinidae), parasitóides larvais (Patel & Habib, 1986; Pair et al., 1986; Silveira et al., 1987; Gladstone, 1991; Milward-de-Azevedo et al., 1991a, b e c); menos ênfase tem sido dada aos parasitóides de ovos, especialmente aos da família Trichogrammatidae.

Parasitóides de ovos do gênero *Trichogramma* ocorrem em todo o mundo, em uma diversidade de culturas e hospedeiros, preferencialmente, da ordem

Lepidoptera, incluindo um grande número de pragas de importância agrícola (Hassan, 1994; 1997), de forma que, são extensivamente utilizados em culturas como o arroz, a cana-de-açúcar, o algodão, o sorgo, a soja, e o milho (Li, 1994). Observações feitas em plantios de milho constataram a presença de espécies de *Trichogramma* parasitando ovos de pragas importantes, como *H. zea* (Neil & Specht, 1990; Sá, 1991; Tironi & Ciociola, 1994; Kazmer & Luck, 1995) e *S. frugiperda* (Waddill & Whitcomb, 1982; Garcia & Sifontes, 1987; Toonders & Sánchez, 1987; Sá, 1991; Rueda & Victoria, 1993; Alvarez & Roa, 1995), com potencial para o controle dessas pragas, já que destroem seus hospedeiros antes que causem danos a cultura (Hintz & Andow, 1990; Smith & Strom, 1993). Deve ser ressaltado, que o uso do controle biológico para *S. frugiperda* em uma cultura de baixa lucratividade como o milho, tem a vantagem de não provocar desequilíbrio e diminuir o custo de produção (Silveira et al., 1987).

O controle biológico com a liberação de parasitóides de ovos é uma alternativa para o manejo de *S. frugiperda*. Entre as espécies de *Trichogramma* encontradas na América do Sul parasitando ovos dessa praga, estão referidas no Brasil, *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 e *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879, sendo *Trichogramma colombiensis*, e *Trichogramma exiguum* registradas na Colômbia (Zucchi et al., 1991; Alvarez & Roa, 1995; Zucchi & Monteiro, 1997). No México, foram constatados por Cortez & Trujillo (1994), parasitóides de ovos das famílias Mymaridae e Trichogrammatidae. García & Sifontes (1987), citaram *Telenomus* sp. (Hymenoptera: Scelionidae) como um importante parasitóide de ovos de *S. frugiperda*. Em levantamentos feitos por esses autores, foi constatada a presença de 46,9% de posturas parasitadas por *Telenomus* sp. além da presença de parasitismo por *Trichogramma* sp. Esta última espécie, porém, só foi constatada naquelas posturas parasitadas por *Telenomus* sp.

Em liberações de *Telenomus remus*, Hernandez et al. (1989) constataram que o parasitismo próximo aos pontos de liberação foi de 100% sendo, que seis semanas após a liberação, observaram, ainda, a ocorrência de 60% de ovos parasitados. Cave & Acostta (1992) liberaram um milhão de *T. remus* por mês, para o controle de *S. frugiperda*, em Honduras e obtiveram 7% a 56% de posturas parasitadas. Constataram, ainda, a presença de *Trichogramma* spp. atacando posturas desta praga. Cruz (1998) conseguiu, após um ano, um controle satisfatório de *S. frugiperda*, sem a necessidade de utilização de outra medida de controle, fazendo liberações semanais de 100.000 parasitóides por hectare. No entanto, estas liberações foram realizadas semanalmente e de forma intercalada, utilizando-se *Telenomus* e *Trichogramma* sp. García et al. (1998) também fizeram liberações inundativa durante os quinze primeiros dias de emergência do milho, de 100.000 a 300.000 adultos de *Telenomus* sp. e 1.000.000 para *T. atopovirilia* e para *T. exigum* resultando em 70% de parasitismo por *Telenomus* sp e 7% para *Trichogramma*. Waddil & Whitcomb (1982) liberaram *T. remus* para o controle de *S. frugiperda* em plantios de milho e sorgo na Flórida, E.U.A., e observaram, que 1,4% das posturas estavam parasitadas por *Trichogramma* spp., 4,5% por *T. remus* e 50% por *Chelonus insularis*. Esta última é, segundo Cruz (1994), a espécie mais abundante dentre os parasitóides de *S. frugiperda*.

Em países, como a Colômbia, procura-se o manejo da fase de ovo de *S. frugiperda*, liberando-se *Telenomus* e *Trichogramma* no período de emergência da planta e durante os dez primeiros dias de desenvolvimento da cultura, resultando em parasitismo na ordem de 57 a 85 % (García & Rojas, 1995). Na Venezuela, a liberação de *T. remus* em conjunto com *T. pretiosum* para o controle dessa praga, resultou numa economia de U\$ 26,98 por hectare no custo de controle (Ferrer, 1998). Eficiência também tem sido obtida de unidades de observações, através de liberação associada de *Trichogramma* e *Telenomus*,

resultando em alta taxa de controle (Cruz, 1995; Cruz et al., 1999). Cruz et al. (1999) recomendaram a liberação de 100.000 *Trichogramma* adultos por hectare para o controle de *S. frugiperda*, em consonância com o aparecimento dos primeiros ovos ou adultos da praga. Para isto, deve se considerar a densidade da praga, espécie ou linhagem de *Trichogramma*, época e número de liberações, método de distribuição, fenologia da cultura, outros inimigos naturais presentes e fatores climáticos.

Em programas de controle biológico com a liberação de parasitóides é fundamental que se demonstre o potencial do inimigo natural para suprimir a população da praga (Van Hezewijk et al., 2000). Entretanto, tem-se verificado que são raras as massas de ovos de *S. frugiperda* parasitadas por *Trichogramma* (Rueda & Victoria, 1993) e alguns autores têm questionado o seu uso como agente de controle de *S. frugiperda*, devido à disposição dos ovos da praga em camadas sobrepostas e a presença de escamas que dificultam a ação do inimigo natural (Toonders & Sánchez, 1987; Sifontes et al., 1988; Armas & Ayala, 1993). Evidência sobre a proteção dos ovos de *S. frugiperda* devido à presença de escamas, pode ser constatada no estudo de Cônsoli (1997), que indicou uma aceitação e um parasitismo de 100% dos ovos por 93% das fêmeas observadas, quando foram utilizados ovos da praga com densidade reduzida de escamas.

De acordo com as observações de Sifontes et al. (1998), mesmo em plantas jovens de arroz, onde as posturas são relativamente pequenas, o parasitismo por *Trichogramma* é dificultado, já que apenas 20 a 40% de seus ovos estão acessíveis ao parasitismo por *Trichogramma*. Armas & Ayala (1993) e Alvarez & Roa (1995) relataram que independente do número de camadas por postura, *Telenomus* sp é mais eficiente no controle de *S. frugiperda* do que *Trichogramma* sp. Cruz (1994) abordou sobre a vantagem em se usar *Telenomus* em relação a *Trichogramma* como agente de controle de *S. frugiperda*, já que o primeiro possui a vantagem de

parasitar as camadas inferiores da postura da praga, o que é inviável para *Trichogramma* devido ao seu diminuto tamanho.

Observações feitas por Sá (1991) demonstraram que o parasitismo natural de ovos de *S. frugiperda* por *T. pretiosum* é baixo, variando de 0,06 a 98,33%, sendo que o último caso foi constatado em uma única postura de 120 ovos, dispostos em uma única camada, com 118 ovos parasitados. Hoffmann et al. (1995) avaliaram o parasitismo natural de ovos de *S. frugiperda* por *Trichogramma ostrinae*, e encontraram uma porcentagem média de ovos parasitados e de adultos emergidos, na ordem de 8,6% e 98,5%, respectivamente.

Basso et al. (1998) relataram que fêmeas de *T. pretiosum* e *T. exiguum* preferiram ovos de *Argyrotaenia sphaleropa* a ovos de *Bonagota cranaodes* (Lepidoptera: Tortricidae), e que tal preferência é devido à presença de um secreção transparente que recobre as posturas de *B. cranaodes*, o que dificulta o parasitismo por *Trichogramma*. Greenberg et al. (1998b) também constataram que a presença de escamas sobre as posturas de *Spodoptera exigua* é uma barreira ao parasitismo por *Trichogramma* spp. Porém, estudo feito por eles em campo de algodão infestado artificialmente com posturas de *S. exigua*, seguido da liberação de *T. pretiosum* e *Trichogramma minutum*, resultou em um parasitismo de 36,8% e 32,5%, respectivamente, mostrando a possibilidade de uso desses parasitóides para o controle da praga.

Barreira física semelhante às escamas nas posturas de *S. frugiperda* foi observada por Smith & Strom (1993) em ovos de *Malacosoma disstria* (Lepidoptera: Lasiocampidae). A mariposa dessa espécie deixa uma camada protetora de espuma sobre os ovos, que dificulta o seu parasitismo por *T. minutum*. No entanto Houseweart et al. (1984), citados por Smith & Strom (1993), relataram que uma espécie de *Trichogramma* próxima a *Trichogramma nubilale*, encontra-se bem adaptada às posturas de *M. disstria*, já

que possui um ovipositor longo, que permite romper a camada de espuma e parasitar os ovos dessa praga.

De acordo com Rueda & Victoria (1993), a dificuldade de se encontrar massas de ovos de *S. frugiperda* parasitadas por espécies de *Trichogramma* pode ser superada utilizando-se um parasitóide que seja mais agressivo e consiga romper a barreira física imposta pela presença de camadas e escamas nos ovos dessa praga, como por exemplo, *T. atopovirilia*. Segundo esses autores, em um total de 1305 ovos de *S. frugiperda* coletados, 42,1% foram parasitados por esta espécie, e dentre elas 04 posturas apresentavam parasitismo superior a 80%, com diminuição do parasitismo com o estágio de desenvolvimento da cultura. Portanto, se faz necessário aprofundarem-se os estudos sobre o papel e importância das espécies de *Trichogramma* encontradas em ovos de *S. frugiperda*, para que se possa escolher uma espécie adequada para ser multiplicada em laboratório, visando ao controle biológico da praga em questão.

2.3. Seleção de linhagens de *Trichogramma* para uso no controle biológico

Para o sucesso de um programa de controle biológico é importante a escolha adequada de uma espécie ou linhagem de inimigo natural a ser utilizada. O grande número de espécies, subespécies e linhagens de *Trichogramma*, criadas “in vivo” ou “in vitro”, apresentam diferenças que podem alterar sua eficiência no controle de uma determinada praga. Essas, variam em sua preferência por hospedeiros, culturas (reconhecimento e aceitação), no comportamento de busca (localização do habitat, localização hospedeira) e na tolerância às condições ambientais (Hassan, 1989 e 1994; Hassan & Guo, 1991; Wührer & Hassan, 1993; Cônsoli & Parra, 1996), podendo, ainda, terem seu ciclo de vida alterado em função do tipo de hospedeiro.

Variações entre linhagens com relação ao comportamento de busca, preferência e adequação ao hospedeiro, têm sido mostradas por diversos autores e, estas podem ocorrer tanto entre linhagens de espécies diferentes como entre linhagens geográficas de uma mesma espécie (Hassan, 1989; Pak et al., 1986 e 1990; Hassan & Guo, 1991; Wührer & Hassan, 1993). A preferência pode, em parte, ser determinada geneticamente e pela experiência da fêmea adquirida durante o desenvolvimento larval (condicionamento pré-imaginal) ou após ter parasitado uma primeira vez o ovo hospedeiro (Cobert, 1985; Kaiser et al., 1989). De qualquer forma, a aceitação do hospedeiro, irá depender de sua reação imunológica ao ovo e larva e da sua adequação nutricional ao desenvolvimento do parasitóide (Kaiser et al., 1989).

É importante saber quando a experiência através do parasitismo ou do desenvolvimento no hospedeiro pode influenciar a escolha por hospedeiros subseqüentes, principalmente, porque as espécies de *Trichogramma* são criadas massalmente por várias gerações em hospedeiros alternativos (Monje et al., 1999), e em muitos casos, o condicionamento pré-imaginal devido ao desenvolvimento nesses hospedeiros, leva à perda da preferência pelo hospedeiro natural (Hassan, 1989; Hassan & Guo, 1991). Assim, adoção de critérios para seleção de linhagens é um fator primordial para o sucesso de programas de controle biológico através de *Trichogramma*.

Hassan (1994 e 1997) chamou a atenção para a necessidade de seleção de espécies e/ou linhagens de *Trichogramma* para o uso em controle biológico. Abordou aspectos quanto ao comportamento de localização do hospedeiro, capacidade de busca, "pureza" das colônias de criação, método de liberação e tolerância às condições ambientais, que interferem na eficiência do parasitóide. Enfatizou sobre a necessidade de estudos de laboratório, semicampo e campo para o processo de seleção de linhagens. Segundo este autor, avaliações pré-introdutórias devem envolver, principalmente, a preferência e a adequação

hospedeira. De acordo com Hassan (1989 e 1994) e Hassan & Guo (1991) o comportamento de procura (localização do habitat e do hospedeiro) pode ser testado na presença da planta hospedeira, em experimentos de semicampo e campo, sendo a preferência (reconhecimento e aceitação) e a adequação hospedeira (capacidade de se desenvolver), testada de forma satisfatória em experimentos de laboratório.

Dentre os métodos utilizados para se testar a preferência hospedeira, Hassan (1997) cita, o método de contacto e parasitismo e o método de observação contínua. Em ambos, o comportamento de fêmeas individualizadas é observado em uma arena contendo ovos do hospedeiro de criação e da praga que pretende-se controlar. No método de contacto e parasitismo a localização da fêmea sobre um dos hospedeiros ou fora destes, é registrada em intervalos de tempos definidos, avaliando-se no final de cinco dias, o número de ovos parasitados de cada hospedeiro. No método de observação contínua, a fêmea é filmada continuamente por um período de 90 minutos, registrando-se a frequência de contactos do parasitóide com o ovo do hospedeiro e avaliando-se a duração das etapas do comportamento de parasitismo, sendo registrados, após a emergência dos parasitóides: número de ovos parasitados; número de adultos emergidos por ovo hospedeiro; razão sexual, sendo utilizada, a razão de aceitação e contacto, a/c (a = número de ovos parasitados, c = frequência de contacto) como índice de avaliação da preferência aos hospedeiros.

Hassan (1989) partiu de 17 linhagens pertencentes a oito espécies de *Trichogramma* para selecionar espécie (s) ou linhagem (s) que fossem efetivas no controle de *Cydia pomonella*, *Adoxophyes orana* e *Pandemis heparana* (Lepidoptera: Tortricidae). Utilizou como método de seleção a capacidade de parasitismo e a preferência hospedeira, tendo como hospedeiro padrão ovos de *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae). A capacidade de parasitismo foi avaliada liberando-se em tubo de vidro, 10 fêmeas do parasitóide para 400 ovos

do hospedeiro, contando-se, no final de 14 dias, o número de ovos parasitados e de adultos emergidos, sendo a preferência hospedeira testada pelo o método de contacto e parasitismo. Os resultados mostraram que *Trichogramma dendrolimi* (linhagem 22) e *Trichogramma embryophagum* (linhagens 42, 45 e 48) contactaram e parasitaram mais ovos dos hospedeiros naturais, *C. pomonella*, *A. orana* e *P. heparana*, em relação ao hospedeiro de criação, *S. cerealella*, sendo estas linhagens mais efetivas no controle das pragas.

Hassan & Guo (1991) testaram a preferência e a eficiência de busca de 25 linhagens de diferentes espécies de *Trichogramma* entre ovos de *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae) e *S. cerealella*, utilizando o método de contacto e parasitismo e teste de semicampo. Observaram que *Trichogramma evanescens* (linhagem 10) e *T. ostriniae* (linhagem 61) contactaram e parasitaram mais ovos de *O. nubilalis* em relação a ovos de *S. cerealella*, e apresentaram maiores capacidades de busca do que as demais linhagens testadas, demonstrando que estas duas espécies apresentam forte preferência por ovos do hospedeiro natural sendo, portanto mais efetivas para o controle de *O. nubilalis*.

Prezotti et al. (1997) utilizaram o mesmo método para comparar a preferência de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* por ovos do hospedeiro natural, *S. frugiperda* e do alternativo, *S. cerealella*, e avaliaram, ainda, alguns parâmetros biológicos, ofertando, por 48 horas, posturas de *S. frugiperda* para fêmeas individualizadas dos parasitóides. Observaram que *T. atopovirilia* contactou, em média, 5,43 vezes ovos de *S. frugiperda* e 1,97 vezes ovos de *S. cerealella*, o que indicou maior atratividade de *T. atopovirilia* por ovos do hospedeiro natural em relação ao hospedeiro de criação, enquanto que *T. pretiosum*, contactou, em média, 2,3 vezes ovos de *S. frugiperda* e 2,1 vezes ovos de *S. cerealella*, demonstrando não ter preferência por ambos os hospedeiros, o que segundo Hassan (1989) e Hassan & Guo (1991), pode indicar a perda de atratividade ao hospedeiro natural, e conseqüentemente, menor eficiência de controle em

campo. Os resultados de Prezzoti et al. (1997) evidenciaram, ainda, que *T. atopovirilia* é uma espécie mais adaptada ao hospedeiro natural, já que, além de maior preferência por ovos de *S. frugiperda*, teve maior capacidade de parasitismo com média de 26 ovos/fêmea e razão sexual de 0,82, quando comparado a *T. pretiosum* que parasitou, em média, 12 ovos/fêmea e apresentou uma razão sexual de 0,41.

Wührer & Hassan (1993) também utilizaram o método de contacto e parasitismo para avaliar a preferência de 47 linhagens de *Trichogramma* e 2 de *Trichigrammatoidea*, entre ovos do hospedeiro natural, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae), e do hospedeiro alternativo, *S. cerealella*. Constataram que *Trichogrammatoidea bactrae*, *Trichogramma chilonis* e *Trichogramma pintoi* preferiram e parasitaram mais ovos da praga alvo do que do hospedeiro alternativo e que para estas espécies, houve uma correlação positiva entre contacto e parasitismo. No entanto, para *Trichogramma cacoeciae*, foi observado que o aumento na frequência de contacto não correspondeu a um aumento no parasitismo sobre ovos de *P. xylostella*, indicando que esta espécie apresenta uma alta capacidade em localizar o hospedeiro, porém, com baixa aceitação por ovos de *P. xylostella*. Esses resultados mostram que um aumento na frequência de contacto em um ovo de uma determinada espécie de hospedeiro, não implica em maior número de ovos parasitados e, conseqüentemente, em preferência a este hospedeiro.

Pak et al. (1986) para selecionar linhagens ou espécies de *Trichogramma* para o controle biológico de *Mamestra brassicae* (Lepidoptera: Noctuidae), *Pieris brassicae* e *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae) partiram do princípio de que o comportamento de seleção hospedeira está entre os fatores determinantes da eficiência do parasitóide no campo, e que uma linhagem ou espécie a ser utilizada não deve ser específica e sim, parasitar ovos de diferentes espécies e idades de forma semelhante, sendo a preferência por uma determinada idade do

ovo ou espécie de hospedeiro, indicativo da perda de sua eficiência. Para a seleção das linhagens, esses autores avaliaram a preferência e o comportamento em hospedeiros com diferentes idades, pelo método de observação contínua, utilizando duas combinações de idades, 0 e 2, e 1 e 3 dias. Demonstraram que, com exceção de *T. evanescens*, que preferiu ovos de um dia de idade de *M. brassicae*, não houve preferência entre as idades dos ovos dos hospedeiros testados, por *Trichogramma maidis* e *Trichogramma brassicae*. A razão aceitação e contacto (a/c) indicou que *M. brassicae* foi preferida em relação à *P. brassicae* e *P. rapae*. Os resultados mostraram, ainda, que a duração das etapas de comportamento independem da idade do hospedeiro, mas está relacionada ao volume, espessura e dureza do córion que diferem entre as espécies, e interferem no comportamento de *Trichogramma*, e que em todas as idades, os hospedeiros foram adequados para o desenvolvimento das três espécies de *Trichogramma*, sendo estas efetivas ao controle das pragas. Resultados, estes, que discordam dos obtidos por Navarro & Marcano (1999), segundo os quais, ovos de *H. zea* de até 24 horas de idade foram preferidos para oviposição e mais adequados ao desenvolvimento de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* em relação a ovos mais velhos com até 72 horas de idade.

Monje et al. (1999) avaliaram a preferência entre tipos e idades de hospedeiros, ofertando, em teste de livre escolha e em confinamento ovos de *Diatraea rufescens* e *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) para *Trichogramma galloi*, e de *D. saccharalis* e *S. cerealella* para *T. pretiosum*. Constataram que tanto *T. galloi* como *T. pretiosum* preferiram ovos mais jovens (0- 24 horas de idade) onde se desenvolveram melhor, do que ovos mais velhos (4-5 dias de idade), que são menos adequados ao seu desenvolvimento, e que em ovos com até 24 horas de idade, o tempo para a fêmea examiná-lo e parasitá-lo é de 5 minutos, enquanto que em ovos de 4- 5 dias este tempo é aumentado para 30 minutos. Observaram, ainda, que ambas as espécies apresentaram

diferenças quanto a preferência ao hospedeiro, sendo que *T. galloi* preferiu ovos de *D. rufescens* em relação a ovos de *D. saccharalis* e que esta espécie não reconhece ovos de *S. cerealella* como hospedeiro. *T. pretiosum* preferiu ovos de *S. cerealella* a ovos de *D. saccharalis*.

Hintz & Andow (1990) conduziram teste de livre escolha para avaliar a preferência de *T. nubilalis* por ovos de *O. nubilalis* de diferentes idades, e observaram que *T. nubilalis* preferiram parasitar em ovos mais jovens em relação aos mais velhos, desde que a diferença na idade fosse superior a dois dias; assim ovos com até 12 horas foram preferidos à ovos de 3 a 4 dias de idade. Neste caso a preferência dependeu da idade e da diferença de idade entre os ovos do hospedeiro. Por outro lado, constataram que a preferência aos ovos de menos idade está associada à sua maior adequação ao desenvolvimento do parasitóide, indicando que a fêmea pode reconhecer e selecionar os ovos do hospedeiro de acordo com sua capacidade de suportar o desenvolvimento da prole. Este resultado está em discordância com os resultados de Pak et al. (1986) que concluíram que *T. brassicae* e *T. maidis* aceitaram ovos do hospedeiro independente da idade e da espécie.

Lopes & Parra (1991) utilizaram teste de livre escolha para avaliar o parasitismo de *Trichogramma distinctum* em ovos de *D. saccharalis* com 1, 2, 3, 4 e 5 dias de idade, durante 24 horas. Avaliaram, ainda, após a emergência dos parasitóides, viabilidade dos ovos parasitados, duração do ciclo (ovo à adulto) e razão sexual. Observaram que o parasitismo de *T. distinctum* aumentou com o desenvolvimento embrionário de *D. saccharalis*, alcançando os maiores valores até o 4º dia, decaindo no 5º dia, quando as lagartas estavam prestes a eclodir, e que a idade dos ovos não afetou os parâmetros biológicos do parasitóide. Estes resultados estão de acordo com os de Pak et al. (1986), e mostram que as relações entre idade do hospedeiro e o parasitismo variam com o tipo de hospedeiro e espécie de parasitóide.

Pak et al. (1990) utilizaram o método de avaliação contínua para seleção de espécies para o controle de *M. brassicae*, *P. brassicae* e *P. rapae*, sem, contudo considerar o efeito da idade sobre o comportamento do inimigo natural. A preferência foi avaliada por um período de 1 hora e 50 minutos ofertando, a fêmeas individualizadas, igual densidade de ovos dos hospedeiros combinados dois a dois. Esse experimento confirmou os resultados de Pak et al. (1986), em que *M. brassicae* foi à espécie hospedeira preferida em relação a *P. brassicae* e *P. rapae*. Com os resultados as linhagens testadas foram classificadas em três grupos com base na aceitação por ovos de *Pieris* em relação à presença de *M. brassicae*, como segue: 1) alta aceitação por ovos de *Pieris*, mas sem preferência entre esta e *M. brassicae*; 2) variável aceitação por *Pieris*, mas com preferência por *M. brassicae*; e 3) aversão a ovos de *Pieris*. Os resultados mostraram que *T. maidis* (linhagens 38 e 82), pertencente ao primeiro grupo, é mais adequada a programas de controle biológico, já que apresentaram alta aceitação por todos os hospedeiros, devendo ser mais efetiva em condições de campo onde mais de uma espécie de praga podem ocorrer simultaneamente.

Li et al. (1994) diferiram dos métodos anteriormente citados quanto ao procedimento adotado para seleção de linhagens visando ao controle de *Rhopobota naevana* (Lepidoptera: Tortricidae). Estes utilizaram três espécies, *T. evanescens*, *T. minutum* e *Trichogramma* sp. nr. *sibericum*, isolando fêmeas de cada parasitóide em placa de Petri contendo ovos do hospedeiro natural, e em seguida avaliaram a aceitação do hospedeiro através do número de ovos examinados e, no final de dez dias, o número de ovos parasitados; determinaram, ainda, o parasitismo após o parasitóide ser criado por 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 17 gerações sobre o hospedeiro alternativo *Peridroma saucia* (Lepidoptera: Noctuidae). Os resultados indicaram que *T. sp. nr. sibericum* foi mais efetivo no controle de *R. naevana* pois apresentou alta razão de aceitação e capacidade de parasitismo se comparado à *T. evanescens* e *T. minutum*. Apesar da afinidade

apresentada por *T. sp. nr. sibericum*, houve uma diminuição na porcentagem de aceitação e capacidade de parasitismo, após a segunda geração no hospedeiro alternativo *P. saucia*, o que aponta para a necessidade de estudos de seleção de linhagens antes da escolha da espécie a ser liberada em campo.

2.4. Comportamento de parasitismo de *Trichogramma* spp.

2.4.1. Descrição geral

Os mecanismos pelos quais as espécies do gênero *Trichogramma* localizam e parasitam seus hospedeiros foram discutidos por diversos autores (Suzuki et al., 1984; Schmidt & Smith, 1985; Kaiser et al., 1989; Blanché et al., 1996; Gomes, 1997; Olson & Andow, 1997; Vinson, 1997, 1998; Nurinhda et al., 1997; 1999). A compreensão desses mecanismos e dos fatores envolvidos que interferem no comportamento do inimigo natural, pode ser usada para identificar as situações onde a liberação do parasitóide terá impacto sobre a população da praga, bem como, sugerir formas de manipulação do ambiente que poderá aumentar a eficiência do inimigo natural em campo (Thomson & Stinner, 1990). Fica, portanto, bastante claro a importância da utilização desses conhecimentos em programas de controle biológico.

Vinson (1997; 1998) fez uma ampla abordagem sobre o modelo geral de seleção hospedeira por parasitóides, fornecendo informações sobre os mecanismos de dispersão e estímulos (químicos, físicos e visuais) utilizados no processo de localização, reconhecimento e aceitação do hospedeiro. Na sua descrição geral, o processo de seleção hospedeira compreende a localização do habitat e do hospedeiro, reconhecimento, aceitação, adequação e regulação do hospedeiro. Essa descrição, porém, abrange, em uma única sequência, mecanismos que estão relacionados ao comportamento de busca e seleção do

hospedeiro pelo adulto, e os que estão associados ao desenvolvimento das formas imaturas. Pak et al. (1986) com base em outros autores, argumentaram que as duas primeiras etapas, localização do habitat e do hospedeiro, são estratégias utilizadas no comportamento de busca do hospedeiro, enquanto que o reconhecimento e a aceitação, etapas que ocorrem após o hospedeiro ser encontrado, compreendem, efetivamente, o processo de seleção hospedeira, sendo que a adequação e a regulação do hospedeiro estão associados ao desenvolvimento do parasitóide.

As etapas seguintes ao encontro do hospedeiro incluem: 1) a avaliação externa; onde a fêmea de *Trichogramma* caminha sobre a superfície do ovo, tocando-o com as antenas em movimentos rápidos para cima e para baixo. Nesta fase, além do reconhecimento externo do hospedeiro é feita uma avaliação do seu volume para a determinação do número de ovos a ser depositado; 2) a perfuração do córion e penetração do ovipositor, ocasião em que ocorre o reconhecimento interno do ovo, seguido da completa inserção do ovipositor, 3) oviposição propriamente dita (Suzuki et al., 1984; Blanché et al., 1996; Hassan, 1997; Nurinhdá et al., 1999); nesta etapa a fêmea executa uma série de movimentos abdominais contínuos e interrompidos, correspondentes à deposição de ovos que darão origem a machos e fêmeas, respectivamente (Suzuki et al., 1984). Após a oviposição, em muitos casos, a fêmea passa a marcar e se alimentar do líquido extravasado pelo orifício de penetração do ovipositor, dispendendo um tempo que é quase duas vezes aquele exigido para oviposição (Blanché et al., 1996).

2.4.2. Avaliação do hospedeiro

Um ponto fundamental no processo de seleção hospedeira diz respeito à capacidade dos adultos em selecionarem hospedeiros adequados ao desenvolvimento da prole (Kaiser et al., 1989). Variações no comportamento podem ocorrer em função da espécie ou linhagem de *Trichogramma* e do tipo de hospedeiro. Fatores como volume, espessura e dureza do córion, e a idade do ovo, interferem no comportamento e, conseqüentemente, no parasitismo por *Trichogramma*. O efeito desses fatores sobre o comportamento de parasitismo pode ser medido através do tempo que o inseto gasta para encontrar e parasitar o ovo do hospedeiro, sendo que dependendo da espécie e de suas características químicas e físicas e de sua condição fisiológica esse tempo pode ser alterado (Schmidt & Smith, 1985; De-Cheng et al., 1988; Kan-Quen et al., 1988; Pak et al., 1986; Hintz & Andow, 1990; Schmidt, 1994; Nurindah et al. 1997).

Resultados de Pak et al. (1986) indicaram que o tempo necessário para que houvesse o reconhecimento externo e interno e a oviposição por *Trichogramma* foi modificado de acordo com a espécie do parasitóide e do hospedeiro, e que a idade do hospedeiro teve pouco ou nenhum efeito sobre o comportamento de parasitismo. Por exemplo, *T. maidis* necessitou de maior período de tempo para reconhecer e aceitar ovos de *M. brassicae*, enquanto que para *T. brassicae* e *T. evanescens* esse tempo foi maior em ovos de *P. brassicae* e *P. rapae*, respectivamente. No entanto, De-Cheng et al. (1988) constataram que a idade hospedeira afetou o comportamento e aceitação de ovos de *Scirpophaga incertus* (Lepidoptera: Pyralidae) por *Tetrastichus schoenobii* (Hymenoptera: Eulophidae) devido às alterações fisiológicas que ocorrem no ovo como conseqüência do desenvolvimento do embrião. Suas observações mostraram que para fêmeas que parasitaram ovos de 1- 3 dias de idade, o período de inserção do ovipositor foi superior a 35 segundos, enquanto que para

aquelas que ovipositaram em ovos de 5 dias de idade, esse tempo foi inferior, sendo que foi constatado que abaixo de 35 segundos de inserção do ovipositor nenhum ovo é colocado pela fêmea.

Pak et al. (1990) confirmando os resultados de Pak et al. (1986), também detectaram variações no tempo de manipulação com relação à espécie de *Trichogramma* e do hospedeiro. Fêmeas de *T. evanescens* e *T. dendrolimi* foram mais rápidas em parasitar ovos de *M. brassicae*, e gastaram, no total, 200 segundos durante o comportamento de oviposição, enquanto que *T. maidis* e *T. exiguum*, necessitaram, aproximadamente, de 400 segundos para parasitar ovos desta mesma praga. Comparando o tempo das etapas de comportamento de *T. evanescens* em ovos de *M. brassicae*, *P. brassicae* e *P. rapae*, os autores constataram, ainda, que o tempo de cada etapa em ovos de *M. brassicae* foi o dobro do que foi observado nos demais hospedeiros. O maior tempo observado em ovos de *M. brassicae* parece estar associado à qualidade do hospedeiro e não ao volume do ovo, já que segundo Pak et al. (1986) ovos de *M. brassicae* têm, em média, 0,90 mm³, enquanto que ovos de *P. brassicae* e *P. rapae* apresentam um volume médio de 1,08 e 0,61mm³, respectivamente.

Cônsoli (1997) estudando o comportamento de oviposição de *T. galloi* em diferentes hospedeiros, constataram que o tempo gasto por *T. galloi* para introduzir o ovipositor em ovos de *S. cerealella* foi maior do que o exigido para ovos de *C. cephalonica* e *D. saccharalis*, embora a espessura do córion fosse semelhante nas três espécies (variando de 4,18 a 6,53 µm). Por outro lado, o tempo exigido por *T. galloi* para penetrar no ovo de *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) foi próximo àqueles observados para *C. cephalonica* e *D. saccharalis*, embora *A. kuehniella* apresentasse menor espessura do córion (2,63 – 3,23µm) do que àquelas espécies. Essas diferenças foram relacionadas à espessura e composição do exócorion em camadas sobrepostas que confere maior compactação e resistência ao córion de *S. cerealella* e *A. kuehniella*.

Suzuki et al. (1984) constataram que para *T. chilonis*, parasitando ovos de *Papilio xuthus* (Lepidoptera: Papilionidae) o tempo para as três etapas principais do comportamento de parasitismo, ou seja, exame externo, penetração do ovipositor e reconhecimento interno, e oviposição, foram de 73,4; 405,9 e 352,0 segundos, não havendo diferença com relação ao tempo registrado entre ovos parasitados e não parasitados. Nurindah et al. (1997) estudando o comportamento de oviposição de linhagens de *Trichogramma australicum*, criadas em ovos de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae), *S. cerealella*, e em dieta artificial, sobre ovos de *H. armigera*, detectaram diferenças quanto ao padrão de comportamento apresentado pelas três linhagens. Para fêmeas provenientes de dieta artificial o tempo para localizar, parasitar, e se alimentar em ovos de *H. armigera*, foi maior do que o das outras linhagens, e estas, geralmente, procuraram se alimentar antes e não após a oviposição, indicando a falta de algum nutriente na dieta que pode ter alterado as condições físicas da fêmea aumentando o tempo exigido para encontrar e parasitar o hospedeiro.

Um outro aspecto fundamental no processo de parasitismo é a determinação do número de parasitóides a se desenvolver por ovo hospedeiro. Como parasitóides de ovos, as espécies do gênero *Trichogramma* dependem de uma estratégia que determine a quantidade de recursos, capaz de suportar a sobrevivência de sua descendência, o que é feito através de medidas do volume e número de ovos acessíveis ao parasitismo. Esta avaliação ocorre durante o exame externo, levando em consideração a frequência de contactos e o número de retornos que a fêmea faz ao encontrar o limite da superfície do ovo com o substrato ou com o ovo vizinho, o que fornece informações sobre a superfície de área disponível do hospedeiro, sendo o número de ovos em cada oviposição proporcional à superfície de área avaliada. Em posturas a superfície do ovo é diminuída devido ao contacto com os ovos vizinhos, o que leva a fêmea a

depositar um número menor de indivíduos por ovo hospedeiro (Schmidt & Smith 1985; Schmidt, 1994).

Utilizando ovos hospedeiros com diâmetro fixo e colocando-os em diferentes profundidades sob o substrato, de forma a obter diferentes superfícies de área e volume expostos, Schmidt & Smith (1985; 1988) observaram que a exposição de *T. dendrolimi* a uma área e volume que variaram de 3,4 a 5,3mm³ e 0,83 a 1,29mm³, respectivamente, resultou em 11,3 a 16,5 parasitóides por ovo. Pak & de Jong (1987) ofereceram esferas de vidro de diferentes tamanhos a espécies de *Trichogramma*, e constataram que o volume teve efeito sobre a preferência por estas espécies. Assim, fêmeas de *T. maidis* aceitaram esferas de tamanho que variaram de 0,58 a 1,21 mm³, enquanto que *Trichogramma buesi* preferiram esferas de maior tamanho (1,21mm³). Cônsoli (1997) constatou que o tempo para *T. galloi* e *T. pretiosum* realizarem a oviposição, foi maior em ovos de maior volume, como os de *D. saccharalis* e de *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) (0,108 mm³), respectivamente, do que em um ovo menor, como o de *S. cerealella* (0,021mm³). Estes resultados fornecem evidências de que o tamanho do ovo é um fator importante no processo de parasitismo, e que fêmeas de *Trichogramma* podem medir o volume do ovo, e determinar o número adequado de parasitóides a se desenvolver por hospedeiro.

Kan-Quen et al. (1988) estudaram a relação do comportamento de oviposição de *T. dendrolimi* e *T. ostrinae* com o tamanho, forma, odor e cor de ovos de diferentes hospedeiros. As duas espécies diferiram quanto à resposta as características físicas dos ovos testados. Uma ampla aceitação por ovos de diferentes espécies, tamanhos e formas foi constatado para *T. dendrolimi*, enquanto *T. ostrinae* preferiu ovipositar em ovos pequenos como os de *O. nubilais* e *C. cephalonica*. Essa diferença foi associada à espessura do corion do ovo das diferentes espécies de hospedeiros utilizados. Fêmeas de *T. onstrinae*

não conseguiu ovipositar em ovos grandes com maior espessura do córion. Os resultados mostraram ainda que há uma distribuição equitativa dos ovos do parasitóide, indicando que a fêmea pode controlar a quantidade de ovos, de acordo com o volume hospedeiro, e reconhecer o ovo sobre o qual ela parasitou. Segundo Schmidt (1994) o volume pode servir, ainda, como parâmetro para determinar a razão sexual da progênie e como um componente do comportamento de reconhecimento do hospedeiro.

2.4.3. Aprendizado em *Trichogramma*

O comportamento de forrageamento e parasitismo de insetos parasitóides pode ser inato, como consequência dos padrões fixados no genótipo da espécie ou, parcialmente, apresentar uma flexibilidade, e desenvolver padrões que não foram fixados geneticamente mas que podem ser aprendidos como consequência da experiência obtida durante o processo de forrageamento e parasitismo. Um outro fator que contribui para o padrão de comportamento da espécie é a sua condição fisiológica. Esta pode ser influenciada por necessidade de acasalamento, fatores ambientais e doenças. A interação destes três fatores irá determinar como o parasitóide interagirá com o ambiente (Lewis et al., 1990). Contudo tem-se demonstrado que muitos parasitóides são capazes de conseguir, por experiência, um aumento na sua capacidade de procura em uma situação ambiental particular ou na preferência por uma dada espécie de hospedeiro. Ao associar os sinais aprendidos durante o parasitismo ou durante o desenvolvimento no hospedeiro, a fêmea pode prontamente localizá-lo e parasitá-lo com maior eficiência e rapidez (Corbet, 1985; Nurindah et al., 1999). Assim, independente dos padrões inatos, as espécies podem adaptar o seu comportamento ao ambiente que eles conviveram quando

adultos ou jovens (Kaiser et al, 1989), o que é conhecido como aprendizado associativo ou α -condicionamento (Vinson, 1998; Nurindah et al.,1999).

Kaiser et al. (1989) investigaram a influência combinada do condicionamento pré-imaginal ao hospedeiro de criação e o aprendizado após a experiência de oviposição de *T. maidis*, em relação à preferência hospedeira entre *A. kuehniella* e *O. nubilalis*. Observaram que quando *T. maidis* foi criada em um hospedeiro não preferido (ovos de *A. kuehniella*) a sua afinidade por esta espécie aumentou; o mesmo ocorreu quando o desenvolvimento do parasitóide se deu em ovos de *O. nubilalis*. Este aumento foi associado à familiarização do parasitóide com sinais do hospedeiro, obtidos durante o desenvolvimento ou no período de emergência do adulto, o que indica a possibilidade da fêmea em reconhecer sinais químicos ou físicos específicos do hospedeiro. Nurindah et al. (1997) perceberam que as fêmeas de *T. australicum* quando criadas em ovos de *S. cerealella* exigem um período de tempo para reconhecer ovos de *H. armigera* como hospedeiro, e só ovipositam após uma segunda inserção do ovipositor. Este resultado indica que o reconhecimento interno contribui para aquisição de experiência que irá induzir a aceitação do hospedeiro potencial no próximo exame.

Nurindah et al. (1999) forneceram evidências de que a experiência de oviposição é um evento que aumenta a aceitação do hospedeiro pelo parasitóide. Eles submeteram fêmeas de *T. australicum* a diferentes níveis de experiência com o hospedeiro (fêmeas que não tiveram contacto prévio, que apenas contactaram o hospedeiro com as antenas, que penetraram o ovipositor mais não ovipositaram, e fêmeas que tiveram uma experiência de oviposição) e observaram que à medida que se aumentou o grau de contacto com o hospedeiro, diminuiu o tempo no comportamento de oviposição no hospedeiro subsequente e aumentou a aceitação por ovos de *H. armigera*. Fêmeas que não tiveram uma experiência prévia de contacto com o hospedeiro, gastaram em

média 240,42 segundos para encontrá-lo e parasitá-lo, enquanto que aquelas que tiveram tal contacto prévio, gastaram, em média, 119,75 segundos.

O tempo que o inseto leva para examinar e parasitar o ovo pode variar em função da espécie de *Trichogramma* e do hospedeiro, porém existe um tempo de “manipulação” mínimo para que o parasitismo seja bem sucedido em uma determinada associação parasitóide-hospedeiro (De-Cheng et al. 1988; Wajnberg, 1989). Esse tempo pode ser diminuído com a experiência de oviposição obtida pela fêmea, como por exemplo, em *T. maidis* onde o tempo para as etapas de comportamento foi menor a partir dos primeiros ovos de *A. kuehniella* parasitados, permanecendo constante a partir do 3º ovo em diante, o que é atribuído à experiência ganha pela fêmea, o que seria uma forma de aprendizado (Wajnberg, 1989).

O reconhecimento do ovo parasitado é outra forma de aprendizado, essencial para o sucesso reprodutivo da espécie, pois evita o superparasitismo e garante o desenvolvimento do parasitóide. Este aprendizado é alcançado através da experiência de oviposição em hospedeiros não parasitados. Observações de Shu-Sheng & He (1990) sobre a seqüência de comportamento de *T. dendrolimi* em ovos de *C. cephalonica*, revelaram que fêmeas que não ovipositaram tiveram a mesma razão de aceitação e contacto (a/c) por ovos parasitados e não parasitados, demonstrando pouca ou nenhuma capacidade de discriminação, enquanto que aquelas que tiveram uma experiência prévia de oviposição, apresentaram alta razão de aceitação e contacto (a/c) por ovos não parasitados, evidenciando que a capacidade de discriminação foi resultante do aprendizado após uma experiência de oviposição.

3. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no período de março de 1998 a abril de 2000, no laboratório de Biologia de Insetos e em telados, do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, e na fazenda Areão, pertencentes à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ) da Universidade de São Paulo (USP), Piracicaba, SP.

3.1. Obtenção e criação das populações de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) e *Trichogramma* spp

3.1.1. *S. frugiperda*

Nos estudos de laboratório e telado, utilizou-se a população de *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) do laboratório de Biologia de Insetos (ESALQ/USP), adicionando-se à mesma, sempre que possível, lagartas eclodidas de posturas coletadas em plantios de milho, localizados na fazenda Areão (ESALQ/USP), visando aumentar a variabilidade genética da criação. No laboratório, as lagartas foram criadas em dieta artificial utilizada por Kasten et al. (1978), mantendo-as no interior de tubos de vidro de 8,5 cm de altura por 2,5 de diâmetro (Figura 1).

Figura 1. Tubo de vidro contendo dieta artificial utilizada na criação de *Spodoptera frugiperda*.

3.1.2. *Trichogramma* spp.

As linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) foram obtidas de posturas parasitadas de *S. frugiperda*, coletadas em plantios de milho no campo experimental do Departamento de Genética e na fazenda Areão pertencentes à ESALQ/USP. A espécie *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 foi fornecida pela Dr^a. Francisca Nemauro P. Haji, do Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Semi- Árido (CPATSA) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

(EMBRAPA), Petrolina, PE. A criação em laboratório foi conduzida em tubos de vidro (8,5 x 2,5 cm) fornecendo-se, como hospedeiro alternativo, ovos de *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae), adotando-se a metodologia de Parra et al. (1989) e Parra (1997). As condições de temperatura, umidade e fotoperíodo para criação dos insetos e durante os estudos de laboratório foram, respectivamente, de 25 ± 2 °C, 70 ± 10 % e 14L:10E.

3.2. Distribuição de posturas e parasitismo natural de ovos de *S. frugiperda* em diferentes estágios fenológicos do milho

O trabalho foi conduzido na fazenda Areão no município de Piracicaba, SP, tendo como coordenadas geográficas: latitude de 22°42'00" Sul, longitude de 47°38'00" Oeste e 546 metros de altitude (Ometto, 1991).

As coletas foram realizadas nos meses de março a julho em 1998 e 1999, de outubro a dezembro em 1998 e de fevereiro a abril em 2000, utilizando-se, em cada período de coleta, uma área de 2 hectares, com uma densidade aproximada de 50.000 plantas de milho por hectare. Foram utilizadas sementes de milho híbrido Zenica 8501. A área, em cada período de coleta, recebeu os tratamentos culturais convencionais recomendados para a cultura, exceto a aplicação de inseticidas após a germinação das plantas. Após o cultivo do milho, a área foi semeada com nabo forrageiro, sendo que em áreas próximas, estavam cultivadas, algodoeiro, soja, além de milho.

3.2.1. Distribuição espacial e temporal de posturas de *S. frugiperda*

Foram feitas coletas semanais, amostrando-se 250 plantas, distribuídas ao acaso, em 10 pontos de amostragem, com uma distância entre si de, aproximadamente, 30 metros. Em cada ponto, avaliaram-se 25 plantas

distribuídas em “X”, sendo 5 plantas no centro e 5 em cada extremidade do ponto amostrado, tendo cada grupo de 5 plantas, uma distância entre si, de, aproximadamente, 5 metros (Figura 2). As plantas foram avaliadas em toda a sua extensão, registrando-se a altura e o número de folhas por planta e a localização da postura na planta. Com esses dados, foi possível agrupar as posturas de acordo com a região da planta (inferior, média e superior) e superfície da folha (abaxial e adaxial) e estudar a sua distribuição considerando-se os diferentes estágios fenológicos (4-6, 8-10 e 12- 14 folhas) do milho (Cruz & Turpin, 1982). As posturas coletadas foram acondicionadas em tubos plásticos (3,5 x 1,0 cm), devidamente etiquetadas, e trazidas para o laboratório, onde foram mantidas em tubos de vidro (8,5 x 2,5cm) e, caracterizadas quanto ao número de camadas, presença e ausência de escamas, e o número de ovos, contado com base no número de lagartas eclodidas.

3.2.2. Parasitismo natural por *Trichogramma* spp.

O parasitismo natural por *Trichogramma* spp. foi avaliado contando-se o número de ovos parasitados nas posturas coletadas no item 3.2.1. Em laboratório, as posturas de *S. frugiperda* foram acondicionadas em tubos de vidro (8,5 x 2,5 cm), para a observação da emergência dos parasitóides. Das espécies emergidas, foram realizadas montagens de lâminas de machos em "Hoyers" e encaminhados para identificação ao Laboratório de Taxonomia de Insetos da ESALQ/USP, coordenado pelo Prof. Dr. R. A. Zucchi.

Figura 2. Esquema de amostragem de posturas para estudo do comportamento de oviposição de *Spodoptera frugiperda* e do parasitismo natural por *Trichogramma* spp. O conjunto de retângulos em “X” indica o ponto de amostragem e cada retângulo representa um grupo de 5 plantas amostrado dentro deste ponto.

3.2.3. Análise estatística

Os resultados da distribuição e número de posturas, de ovos e de camadas por posturas (item 3.2.1.), e o número e a porcentagem de posturas parasitadas e a sua distribuição (item 3.2.2.) nos diferentes estágios fenológicos e regiões da planta de milho, foram submetidos à análise de variância e as médias

comparadas pelo teste PLSD ($P \leq 0,05$), sendo os tratamentos dispostos em esquema fatorial com dois fatores: idade da planta e região da planta onde procedeu-se a coleta; o número e a porcentagem de ovos de *S. frugiperda* parasitados nos diferentes estágios fenológicos (item 3.2.2.) foram comparados pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$), considerando-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, utilizando-se, para análise o programa SAS (1998).

3.3. Seleção de linhagens de *T. pretiosum*

A seleção foi realizada a partir de 20 linhagens de *T. pretiosum*, coletadas em posturas de *S. frugiperda* em milho (itens 3.1. e 3.2.2.) Considerou-se como uma linhagem, os indivíduos emergidos de uma mesma postura, sendo estas nomeadas segundo o hospedeiro coletado, local de coleta e ordem de emergência no laboratório, quais sejam: Lsg^{nº} quando coletadas em campo de milho do Departamento de Genética (campus da ESALQ) e Lsa^{nº} na Fazenda Areão (L= linhagem; s= hospedeiro, *S. frugiperda*; g= Genética e a= Areão).

3.3.1. Biologia em ovos de *S. frugiperda*

Antes da instalação do experimento, as linhagens foram mantidas, por uma geração em ovos de *S. frugiperda*, a fim de se eliminar o efeito do hospedeiro alternativo, com um provável condicionamento pré-imaginal. Fêmeas recém-emergidas de *T. pretiosum* (n=30) de cada linhagem foram individualizadas em tubos de vidro (12,0 x 75,0mm), oferecendo-se, para cada fêmea, 40 ovos de *S. frugiperda* com, no máximo, 12 horas de idade e como fonte de alimento, uma gota de mel de abelha puro (Figura 3). Visando avaliar apenas a qualidade do hospedeiro para o desenvolvimento de *T. pretiosum*, os ovos de

Figura 3. Tubo de criação e cartela contendo ovos de *Spodoptera frugiperda* utilizados no estudo do desenvolvimento das linhagens de *Trichogramma pretiosum*.

S. frugiperda foram separados, eliminando-se, dessa forma, as barreiras físicas (camadas e escamas) de suas posturas. Inicialmente, as posturas foram imersas por 15 minutos em água destilada, para facilitar a separação dos ovos, e estes, em seguida, destacados com pincel e fixados à cartolina de coloração azul, por meio de água destilada. O parasitismo foi permitido por 48 horas, avaliando-se: duração do desenvolvimento (ovo-adulto), porcentagem de emergência, número de ovos parasitados, porcentagem de parasitismo, número de adultos emergidos por ovo, longevidade das fêmeas e razão sexual, dada pela equação:

$$rs = \frac{fêmea}{fêmea + macho}$$

3.3.2. Preferência hospedeira para oviposição: ovos de *S. frugiperda* X ovos de *A. kuehniella*

A preferência hospedeira foi avaliada utilizando-se as três linhagens que apresentaram melhor desempenho biológico em ovos de *S. frugiperda* dentre as 20 estudadas no item 3.3.1., adotando-se a metodologia de Hassan (1989). Ovos de *A. kuehniella* e *S. frugiperda* foram distribuídos em diagonal, em pequenas áreas ($0,4 \text{ mm}^2$) de uma arena de cartolina azul (20 mm^2) colocada no interior de um tubo de vidro ($8,5 \times 2,5 \text{ cm}$), no centro da qual foi oferecida uma gota de mel puro (Figura 4). Fêmeas ($n=20$) de *T. pretiosum* recém emergidas de ovos de *A. kuehniella*, provenientes das linhagens selecionadas, foram individualizadas no interior dos tubos, e monitoradas por 45 min, durante um período de 6 (seis) horas, registrando-se a posição de cada uma na arena e, dessa forma, a frequência de contatos nos ovos de ambos os hospedeiros.

3.3.3. Análise estatística

Os parâmetros biológicos avaliados no item 3.3.1. foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$), utilizando-se o programma SANEST. Com esses parâmetros foi realizada uma análise de agrupamento ("clusters analyses") (Gomes & Parra 1998) utilizando-se o método da média não ponderada (UPGMA/SAS), para se avaliar o grau de similaridade entre as linhagens estudadas. Os resultados do teste de preferência hospedeira entre ovos de *S. frugiperda* e *A. kuehniella* foram comparados pelo teste não paramétrico de χ^2 , através do programa SAS (1998).

Figura 4. Arena utilizada para avaliar a preferência hospedeira de *Trichogramma pretiosum*, entre ovos de *Spodoptera frugiperda* e *Anagasta kuehniella*, no interior de tubos de vidro de 8,5 x 2,5 cm.

3.4. Biologia, capacidade de parasitismo e preferência hospedeira: ovos de *S. frugiperda* X ovos de *A. kuehniella*, de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*

Para o estudo de biologia comparada com *T. atopovirilia*, utilizou-se a linhagem Lsg₁₈ de *T. pretiosum* selecionada do item 3.3.

3.4.1. Biologia em ovos de *S. frugiperda*

O desenvolvimento de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* foi comparado segundo metodologia empregada no item 3.3.1., porém, utilizando-se 40 fêmeas de cada espécie, individualizadas em tubos de vidro (12,0 x 75,0mm).

3.4.2. Capacidade de parasitismo

A capacidade de parasitismo de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* foi avaliada individualmente, utilizando-se posturas recém colocadas (0- 12 horas) de *S. frugiperda*, com diferentes características físicas, a saber: tratamento 1: uma camada de ovos sem escamas; tratamento 2: duas camadas de ovos sem escamas; tratamento 3: uma camada de ovos com baixa densidade de escamas; tratamento 4: uma camada de ovos com alta densidade de escamas (Figura 5). Foram individualizadas, em tubos de vidro (12,0 x 7,0 mm), para cada tipo de postura, 15 fêmeas dessas espécies alimentadas com uma gota de mel puro. O parasitismo foi permitido por 48 horas, removendo-se, após este período, as fêmeas dos tubos de criação. O número de ovos de cada postura foi contado com base no número de lagartas eclodidas e de ovos parasitados. Quando da emergência dos adultos de *Trichogramma*, foram contados: número de ovos com orifício de saída e ovos escuros sem a emergência de adultos, avaliando-se, assim, o número de ovos parasitados e a porcentagem de parasitismo.

Os tamanhos das fêmeas de *Trichogramma* spp., com base no comprimento da tibia posterior (Bai et. al., 1992; Olso & Andow, 1998), e do ovipositor, foram comparados utilizando-se 20 fêmeas de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*, provenientes de ovos de *S. frugiperda* e de *A. kuehniella*. As fêmeas foram mortas e clarificadas em ácido acético glacial por 48 horas, e a seguir, montadas em lâminas com "Hoyers" (Kazmer & Luck, 1995) e secas em estufa a

Figura 5. Posturas de *Spodoptera frugiperda* com diferentes características físicas:

A) uma camada de ovos sem escamas; B) duas camadas de ovos sem escamas; C) uma camada de ovos e baixa densidade de escamas; D) uma camada de ovos e alta densidade de escamas.

60°C. O comprimento da tíbia posterior foi considerado a partir da articulação com o fêmur até a junção com o tarso (Olson & Andow, 1998), e do ovipositor, a partir da base até o seu ápice (Figura 6). Para se correlacionar o tamanho da tíbia com o comprimento do ovipositor, as medições dessas estruturas foram feitas em uma mesma fêmea através de uma ocular micrométrica acoplada ao microscópio estereoscópico com capacidade de aumento de até 100 vezes.

Figura 6. Comprimento da tíbia posterior (A) e do ovipositor (B) de *Trichogramma* spp. (aumento de 500 vezes).

3.4.3. Preferência hospedeira para oviposição: ovos de *S. frugiperda* X ovos de *A. kuehniella*

A preferência hospedeira foi avaliada para *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* utilizando-se a metodologia adotada no item 3.3.2. Além da frequência de contatos nos ovos de ambos os hospedeiros, foi avaliado, o número de ovos parasitados para cada espécie.

3.4.4. Análise estatística

Os resultados do item 3.4.1. foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). As médias relativas à capacidade de parasitismo e ao comprimento da tíbia posterior e do ovipositor (item 3.4.2.) foram comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$), sendo os tratamentos dispostos em esquema fatorial com dois fatores, espécie de *Trichogramma* e hospedeiro de criação, adotando-se o delineamento experimental inteiramente casualizado. Para se verificar a relação entre o tamanho da tíbia posterior e o comprimento do ovipositor de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*, utilizou-se uma análise de correlação através do programa SANEST. A preferência para oviposição (item 3.4.3.) entre ovos de *S. frugiperda* e *A. kuehniella* foi comparada pelo teste não paramétrico de χ^2 , através do programa SAS (1998).

3.5. Comportamento de parasitismo de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* em posturas de *S. frugiperda* com diferentes barreiras físicas

O comportamento de parasitismo foi estudado utilizando-se posturas de *S. frugiperda* (0- 12 horas de idade) com diferentes barreiras físicas como descritas no item 3.4.2. (Figura 5). Foram individualizadas, em tubos de vidro (12,0 x 7,0 mm), para cada tipo de postura, de 20 a 30 fêmeas de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* com até 24 horas de idade, as quais, foram filmadas por 20 min., através de um microscópio estereoscópico (Leica- Wild M10) acoplado a uma câmara filmadora (VK_C360N, Hotachi®) adaptada a um sistema de vídeo (Figura 7). As avaliações foram iniciadas após o encontro do parasitóide com a postura hospedeira, cronometrando-se os tempos de: (a) exame externo (período em que a fêmea caminha sobre a superfície do ovo tocando-o com as antenas); (b) penetração do ovipositor e reconhecimento interno (caracterizado por movimentos verticais descendentes e ascendentes do abdome, durante os quais a fêmea introduz o ovipositor e faz a avaliação interna do ovo hospedeiro); (c) oviposição (colocação de ovos propriamente dita); esse parâmetro teve o seu tempo computado juntamente com o tempo de marcação do ovo; (d) tempo total sobre cada ovo parasitado; (e) permanência da fêmea parasitando sobre a postura e (f) deslocamento da fêmea entre ovos parasitados; (g) o número de ovos parasitados.

Com esses resultados foram avaliados, ainda: 1) o reconhecimento e rejeição do ovo parasitado pela fêmea, através do registro da presença ou ausência de movimentos abdominais que caracterizam a oviposição e do cálculo da porcentagem de redução do tempo obtido durante a penetração do ovipositor e reconhecimento interno, entre um ovo parasitado e um não parasitado; e 2) a ocorrência de aprendizado em *T. atopovirilia* e

Figura 7. Conjunto utilizado no estudo do comportamento de parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* e *Trichogramma pretiosum*. A) câmera filmadora acoplada ao microscópio estereoscópico; B) monitor de vídeo; C) vídeo cassete; D) iluminador de fibra óptica.

T. pretiosum, comparando-se os tempos obtidos em cada etapa do comportamento de parasitismo nos ovos subseqüentes ao primeiro ovo parasitado. Neste último, optou-se por avaliar os resultados referentes ao tratamento com posturas de uma camada de ovos e sem escamas, como forma

de se isolar os efeitos adversos devido à distribuição dos ovos em camadas e da presença de escamas sobre o comportamento do inseto.

3.5.1. Análise estatística

Os parâmetros avaliados durante o comportamento de oviposição foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste PLSD ($P \leq 0,05$), sendo os tratamentos dispostos em esquema fatorial com dois fatores, espécie de *Trichogramma* e tipo de postura, no delineamento experimental inteiramente casualizado. Procedeu-se, ainda, a uma análise de correlação, para determinar a eventual relação entre o tempo em que a fêmea permaneceu parasitando sobre a postura e o número de ovos parasitados e, entre o tempo percorrido após o término do parasitismo de um ovo e o início da próxima avaliação externa e o número de ovos parasitados, usando-se o programa SAS (1998). As médias referentes ao comportamento de aprendizado foram comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$), adotando-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, usando-se o programa SANEST.

3.6. Capacidade de parasitismo de *T. atopovirilia* em telado

Pelo melhor desempenho biológico, optou-se, neste teste, pela espécie *T. atopovirilia*. Para a avaliação da capacidade de parasitismo desta espécie em telado, utilizaram-se gaiolas com armação de ferro revestida com tule (1,50 x 1,10 x 1,50 cm). Em cada gaiola foram mantidas cinco plantas de milho com 25 a 30 dias de idade, às quais foi fixada, por meio de alfinete, na superfície adaxial da última folha superior, uma postura de *S. frugiperda* recém colocada (0- 12 horas) por planta (Figura 8). Foram utilizadas como tratamentos posturas com 1,

Figura 8. A) Gaiola utilizada para avaliação da capacidade de parasitismo de *Trichogramma atropovirilia* em telado; B) Distribuição das plantas de milho na gaiola; C) Posição da postura de *Spodoptera frugiperda* na planta e local de liberação de *T. atropovirilia*.

2 e 3 camadas, sem contudo considerar a presença ou ausência de escamas sobre estas posturas. O número de ovos das posturas em camadas foi estimado multiplicando-se o número de ovos da camada superior pelo número de camadas, somando-se a este os ovos das margens das camadas subsequentes (Leuck & Perkins 1972; Nalin 1991). Com base nesta estimativa foram liberados 1,6 *T. atropovirilia* por ovo (Lopes, 1989). As liberações foram feitas durante seis dias consecutivos, utilizando-se 2 gaiolas por tratamento/dia, totalizando 36 parcelas, sempre no período da manhã, entre 9:0 e 10:0 horas, renovando-se as

plantas antes de cada liberação. Vinte e quatro horas após as liberações, as posturas foram trazidas para o laboratório, contando-se o número total de ovos, com base no número de lagartas eclodidas, e de ovos parasitados.

3.6.1. Análise estatística

Os dados experimentais foram analisados em blocos ao acaso com três tratamentos (tipo de posturas) e seis repetições (dia de liberação) sendo, as médias dos tratamentos submetidas à análise de variância e em seguida comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) usando-se o programa SAS (1998).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Distribuição de posturas e parasitismo natural de ovos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) em diferentes estágios fenológicos do milho.

4.1.1. Distribuição espacial e temporal de posturas de *S. frugiperda*

As posturas de *S. frugiperda* foram encontradas em todos os estágios fenológicos do milho (*Zea mays*) localizadas, principalmente, sobre as folhas (mais de 99%), sendo a minoria, duas posturas, encontrada no caule. Houve interação significativa dos estágios fenológicos e a região da planta (inferior, média e superior) ($F= 2,79$; $P= 0,02$) e entre a superfície (abaxial e adaxial) da folha do milho ($F= 7,79$; $0,009$), ou seja, a distribuição das posturas nas diferentes regiões sofreu variações com a idade da planta do milho. Nos estágios iniciais de desenvolvimento da cultura (4- 6 folhas) a oviposição ocorreu, principalmente, na região inferior da planta (1ª e 2ª folhas) e na superfície abaxial das folhas, com 60,4% e 83,4% das posturas, respectivamente, diferindo, significativamente, em relação às regiões média e inferior, e superfície adaxial, dentro do mesmo estágio e entre os estágios de desenvolvimento (8-10; 12-14 folhas) (Tabela 1). Com o desenvolvimento da planta, no estágio de 8- 10 folhas,

Tabela 1. Distribuição de posturas de *Spodoptera frugiperda* na planta de milho, em diferentes estágios fenológicos, durante o período agrícola de 1998 a 2000 em Piracicaba, SP.

Estágio fenológico	Idade da planta (dias)	Altura da planta (cm)	n	Posturas/região da planta ¹			Posturas/superfície da folha ²	
				Inferior ³	Média	superior	abaxial ³	adaxial
4-6 folhas	14,0-38,0	14,75-49,61	8	9,75 ± 3,61aA	4,62 ± 0,94bA	2,00 ± 0,92cB	13,87 ± 3,76aA	2,75 ± 1,53bB
8-10 folhas	22,0-61,0	34,64-112,16	16	4,37 ± 1,06aB	6,06 ± 1,29aA	6,06 ± 1,31aA	5,43 ± 0,84bB	11,00 ± 2,34aA
12-14 folhas	36,0-90,0	67,12-190,71	16	2,00 ± 0,52bB	6,25 ± 1,67aA	1,93 ± 0,61bB	3,93 ± 0,79aB	6,31 ± 1,90aA

^{1, 2} dados transformados em $(x+1)^{-0,1}$ e $\log x+1$, respectivamente.

³ médias seguidas de mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste PLSD ($P<0,05$)

houve uma mudança no local de oviposição, passando as posturas a se concentrarem nas regiões média e superior (73,5%), e na superfície adaxial da folha (66,9% das posturas). No estágio de 12-14 folhas, observou-se maior quantidade de posturas (61,4%) na região média da planta diferindo estatisticamente, com relação às regiões inferior e superior, porém, não se detectando diferença estatística entre a superfície abaxial e adaxial da folha como local preferido para oviposição. A região média manteve-se mais ou menos constante como local de oviposição, não diferindo, estatisticamente, entre os estágios fenológicos (Tabela 1). Esses resultados discordam dos obtidos por Pitre et al. (1983) que observaram que 70% das posturas de *S. frugiperda* foram encontradas sobre a superfície inferior da folha de milho; no entanto, esses autores consideraram as posturas de todos os estágios fenológicos e não observaram a variação com a idade do planta, para indicação de mudança no comportamento de oviposição. Diferem, ainda, dos resultados de Sifontes et al. (1988), segundo os quais, *S. frugiperda*, independente da idade da planta de arroz (*Oryza sativa*), seja com 10, 15 ou 23 dias, preferiu ovipositar na região média da planta (70% das posturas) e na superfície abaxial das folhas (78% das posturas), e de Ali et al. (1989), que em todos os estágios fenológicos do algodoeiro (*Gossypium hirsutum*), observaram a região inferior e média da planta, e a superfície abaxial das folhas, como os locais preferidos para oviposição de *S. frugiperda*. Meneses et al. (1991), também observaram maior quantidade de posturas de *S. frugiperda* sobre a superfície abaxial das folhas de arroz (72,5% das posturas).

Alterações no comportamento de oviposição de *S. frugiperda* ocorrem em função do tipo e da idade do hospedeiro. Resultados de Pitre et al. (1983) mostram que em gramíneas, como sorgo (*Sorghum bicolor*) e milho, as posturas são em maior número e de maior tamanho, em relação a outros hospedeiros, como soja (*Glycine max*) e algodoeiro. No entanto, a superfície abaxial das folhas

e as regiões da planta com maior massa foliar são mantidas como áreas preferidas para oviposição, por se constituírem em ambientes de proteção dos adultos, ovos e larvas. No presente estudo, observou-se que no milho o comportamento de oviposição de *S. frugiperda* parece ser direcionado para a proteção e alimentação da prole, com as fêmeas ovipositando em áreas próximas ao local de alimentação das lagartas. Sendo assim, com o desenvolvimento da planta, as posturas foram direcionadas para a região superior da planta, próxima ao cartucho, e, na ausência deste, quando do pendramento, a região média da planta, próxima à espiga, passou a ser o principal local de oviposição. Os resultados presentes estão em consonância com as observações de Labatte (1993), sobre a distribuição das lagartas de *S. frugiperda* no milho. Segundo este autor, no estágio inicial de desenvolvimento do milho (4-6 folhas), as lagartas migram em direção à região superior da planta onde passam a se alimentar. Até o estágio de 10 folhas, a alimentação ocorre, preferencialmente, entre as folhas do cartucho, onde a lagarta permanecerá até o fim do seu desenvolvimento. Após o estágio de 12 -14 folhas, as lagartas migram para o pendão e região média da planta, onde se dá o embonecamento e formação da espiga, sendo aí encontradas nas folhas e na espiga. Este padrão de distribuição de posturas e larvas também foi observado para *Ostrinia nubillalis* por Shelton et al. (1986) e Labatte (1991), segundo os quais o estágio fenológico do milho é o principal fator que afeta o comportamento de oviposição da praga.

Houve diferenças, significativas, quanto ao número médio de posturas ($F=4,09$; $P=0,01$) entre os três estágios de desenvolvimento do milho, com maior concentração de posturas nos estágios iniciais de desenvolvimento (4-6 folhas) até aproximadamente os 60 dias do plantio, quando as plantas estavam com 8-10 folhas, passando a diminuir, no estágio de 12-14 folhas. O número de

Tabela 2. Número de posturas, de ovos, e de posturas com diferentes camadas (I, II, III, >IV), de *Spodoptera frugiperda* em diferentes estágios fenológicos do milho, durante o período agrícola de 1998 a 2000 em Piracicaba, SP.

Estágio fenológico	n	nº médio de posturas	nº médio de ovos/coleta	camadas/postura ¹			
				I	II	III	>IV
4-6 folhas	8	16,25 ± 5,19a ²	2.344,00 ± 882,22a ³	0,87 ± 0,33bA ⁴	6,37 ± 2,58aA	5,00 ± 1,65aA	2,25 ± 1,23bB
8-10 folhas	16	16,50 ± 2,89a	3.647,75 ± 788,25a	0,62 ± 0,15cA	2,68 ± 0,15bB	5,62 ± 0,41aA	5,56 ± 0,37aA
12-14 folhas	15	10,12 ± 2,45b	2.086,20 ± 471,13a	0,60 ± 0,15bA	1,53 ± 0,29abB	2,46 ± 0,64aB	3,20 ± 0,27aAB
Média geral				0,69 ± 0,13b	3,52 ± 0,56a	4,36 ± 0,97a	3,67 ± 0,90a

¹ dados transformados em (x+1)^{-0,3}

^{2,3} médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste PLSD e "F" (P<0,05), respectivamente

⁴ médias seguidas de mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste PLSD (p<0,05)

ovos coletados não diferiu entre os três estágios ($F= 2,76$; $P= 0,01$) (Tabela 2). Estes resultados diferem de Pitre et al. (1983) que em teste de livre escolha, constataram preferência de *S. frugiperda* em ovipositar sobre plantas de milho com idade e altura variando de 54,0-64,0 dias e 109,0-127,0 cm, respectivamente, correspondendo ao estágio fenológico de 12-14 folhas do presente estudo.

A diminuição do número de posturas com a idade da planta observado no presente estudo, coincide com a flutuação populacional de adultos e lagartas de *S. frugiperda* observada por Mitchell et al. (1984) e Gutiérrez-Martínez et al. (1989), e pode estar relacionada à adequação nutricional das folhas às lagartas nesses estágios de desenvolvimento. Levantamentos feitos por Gutiérrez-Martínez et al. (1989) mostraram que os primeiros adultos aparecem logo após a emergência da planta, com maior período de captura a partir do 10º ao 41º dia de emergência, época de maior susceptibilidade da planta, diminuindo, consideravelmente, até o 72º dia quando há um menor ataque à cultura do milho. Segundo estudos feitos por Cruz & Turpin (1982) o maior período de infestação ocorre nos estágios de 4-6 e 8-10 folhas, com danos maiores na fase de 8-10 folhas, com perdas no rendimento em 19%; a partir do estágio de 12-14 folhas as perdas na produção de grãos são inferiores a 9%. Estes resultados são coincidentes com a dinâmica populacional das posturas observada no presente estudo.

Houve interação significativa dos fatores idade da planta e número de camadas por postura de *S. frugiperda* ($F= 2,72$; $P= 0,01$). Em todos os estágios fenológicos, as posturas, em sua maioria, apresentaram mais do que uma camada, com maior frequência para aquelas com três camadas (Tabela 2). No estágio de 4- 6 folhas houve predominância de posturas com 2 e 3 camadas, sendo que nos estágios subseqüentes, 8- 10 e 12- 14 folhas, predominaram aquelas com 3 e 4 camadas. De um total de 237 posturas, 91,56% estavam

cobertas de escamas. Tais resultados são coincidentes com os resultados de Meneses et al. (1991) que observaram em arroz, maior frequência de posturas com três camadas e média, de 385,6 ovos/ postura. Nos estágios de 8-10 e 12-14 folhas, as posturas foram maiores, do que no estágio com 4-6 folhas. Em média, obtiveram-se 164,49, 240,18 e 269,76 ovos/postura, em seqüência, para os três estágios fenológicos do milho. Tais números são concordantes com aqueles de Sifontes et al. (1988), que constataram posturas de *S. frugiperda* com maior número de camadas, de ovos, e maior densidade de escamas em plantas de arroz de idade mais avançada.

Ficou evidenciado que há uma alteração no comportamento de oviposição de *S. frugiperda* em função do estágio fenológico, mostrando que a fêmea é capaz de selecionar partes da planta conforme o desenvolvimento da cultura. Estas informações podem auxiliar na implementação de métodos de amostragem em campo, na aplicação de ovicidas e liberação de *Trichogramma* spp. para o controle da praga, dependendo do estágio fenológico da cultura. No entanto, devido às características das posturas com os ovos distribuídos em camadas sobrepostas, ficam dúvidas sobre a viabilidade de utilização de *Trichogramma* para o controle de *S. frugiperda*, dúvidas estas que necessitam ser esclarecidas e que são objeto de pesquisas desta tese.

4.1.2. Parasitismo natural por *Trichogramma* spp.

Não foi encontrada interação dos fatores estágio fenológico e região da planta ($F= 1,49$; $P= 0,21$), bem como, não foram observadas diferenças significativas entre os três estágios de desenvolvimento com relação ao número ($F= 0,3$; $P= 0,74$) e porcentagem ($F= 1,37$; $P= 0,25$) de posturas de *S. frugiperda* parasitadas por *Trichogramma* spp. (Tabela 3). Detectaram-se diferenças significativas entre as três regiões ($F= 2,91$; $P= 0,05$), com maior quantidade de

Tabela 3. Número e porcentagem médios de posturas de *Spodoptera frugiperda* parasitados por *Trichogramma* spp. em três estágios fenológicos da planta de milho, durante o período agrícola de 1998 a 2000 em Piracicaba, SP.

Estágio fenológico	Número de coletas	Número de posturas parasitadas ¹	Parasitismo (%)
4-6 folhas	8	7,00 ± 3,01a	43,75 ± 11,29a
8-10 folhas	16	2,93 ± 1,14a	18,43 ± 4,67a
12-14 folhas	15	2,86 ± 1,15a	27,74 ± 6,52a

¹. médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste F (p<0,05)

posturas parasitadas nas regiões inferior e média da planta (Tabela 4). O número (F= 0,98; P= 0,38) e a porcentagem (F= 1,84; P= 0,17) de ovos de *S. frugiperda* parasitados também não diferiram entre os três estágios fenológicos do milho (Tabela 5), mostrando, que a distribuição e capacidade de parasitismo de *Trichogramma* spp. em diferentes regiões da planta foram independentes do estágio de desenvolvimento da cultura.

Observou-se que o parasitismo natural foi bastante reduzido, com no máximo 2,21% de ovos parasitados (Tabela 5), e que embora houvesse disponibilidade de ovos de *S. frugiperda* em todos os estágios fenológicos, não houve um aumento correspondente no parasitismo por *Trichogramma*, mantendo-se constante, mesmo nas maiores densidades de posturas que foram observadas em plantas com 4-6 e 8-10 folhas (Tabela 2). O baixo parasitismo observado pode ser atribuído às características físicas das posturas de *S. frugiperda*, já que em todos os estágios de desenvolvimento do milho a maioria das posturas apresentaram -se com mais de que uma camada de ovos,

Tabela 4. Número e porcentagem médios de posturas de *Spodoptera frugiperda* parasitados por *Trichogramma* spp. em três regiões da planta de milho, durante o período agrícola de 1998 a 2000 em Piracicaba, SP.

Região da planta		Número de posturas parasitadas ¹	Parasitismo (%)
Inferior	33	2,03 ± 0,44a	26,04 ± 5,39a
Média	38	1,47 ± 0,13a	18,61 ± 3,52a
Superior	29	0,65 ± 0,05 b	15,39 ± 5,33a

¹. médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste PLSD e F (P<0,05), respectivamente.

Tabela 5. Parasitismo de ovos de *Spodoptera frugiperda* por *Trichogramma* spp, em diferentes estágios fenológicos do milho, durante o período agrícola de 1998 a 2000 em Piracicaba, SP.

estágio fenológico	nº médio de ovos			
	n	Total de ovos	parasitados ¹	parasitismo (%) ²
4-6 folhas	8	18.752,0	51,87 ± 21,85a ³	2,21 ± 0,91a
8-10 folhas	16	58.364,0	33,19 ± 12,66a	0,91 ± 0,60a
12-14 folhas	15	31.293,0	38,81 ± 16,05a	1,86 ± 0,57a

^{1, 2}. dados transformados em (x)-0,1 e 1/√x, respectivamente.

³ médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste F (p<0,05).

geralmente três, e cobertas por escamas (91,56% das posturas), evidenciando que estas barreiras físicas afetam o parasitismo e impedem o aumento da população do parasitóide, mesmo havendo um aumento na disponibilidade de ovos da praga no campo.

Os resultados da presente pesquisa discordam dos obtidos por Rueda & Victoria (1993) que estudando o parasitismo natural de ovos de *S. frugiperda* por *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 em milho, observaram uma diminuição na porcentagem de parasitismo com a idade da cultura, variando de 7,54% e 8,13% observados em plantas com 20 e 20-40 dias, respectivamente, para 0,12% na época prévia ao pendoamento. Contudo, esses autores atribuíram tal diminuição ao tamanho das posturas que em plantas com 20 a 40 dias de idade tinham poucos ovos, aproximadamente 60 a 89 ovos/postura, e com uma camada, aumentando o número de camadas e de ovos nos estágios subseqüentes, para 160 ovos/postura, corroborando com a hipótese de que a distribuição dos ovos em camadas nas posturas de *S. frugiperda* é uma barreira física que pode afetar a capacidade de parasitismo de *Trichogramma* em campo.

García & Sifontes (1987), Toonders & Sánchez (1987), Sá (1991) e Hoffmann et al. (1995) fizeram estudos que revelaram a dificuldade de *Trichogramma* spp. parasitar as posturas de *S. frugiperda*, à semelhança dos resultados obtidos na presente pesquisa. Segundo García & Sifontes (1987) do total de 47 posturas coletadas, 46,9% estavam parasitadas por *Telenomus* e 4,3% parasitadas, em conjunto, por *Trichogramma* spp. e *Telenomus*. Porém esses autores consideraram apenas as posturas parasitadas e não levaram em conta o número de ovos parasitados, o que, logicamente, resultaria em menor porcentagem de parasitismo. Já Toonders & Sánchez (1987), considerando o número de ovos parasitados, observaram que o parasitismo natural por *Trichogramma* spp. variou de 0 a 10% em amostras feitas em seis campos de coletas e quando fizeram liberações de 30.000 parasitóides em 1,5 ha de milho, o

parasitismo foi apenas de 4%. O parasitismo natural de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 observado por Sá (1991) variou de 0,06% a 98,33%, sendo que o último caso foi constatado em uma única postura de 120 ovos, dispostos em uma única camada, com 118 ovos parasitados. Hoffmann et al. (1995) avaliando o parasitismo natural por *Trichogramma ostrinae* encontraram uma porcentagem média de ovos parasitados e de adultos emergidos, da ordem de 8,6% e 98,5%, respectivamente.

A diferença de parasitismo observada entre as três regiões da planta, não mostra uma preferência de *Trichogramma* spp. parasitar nas porções inferior e média, mas sim, está associado ao comportamento de oviposição de *S. frugiperda*, que em geral, ovipositou mais nessas regiões (média de 5,37, 5,64 e 3,29 posturas para as regiões inferior, média e superior, respectivamente), possibilitando aumento no número de posturas parasitadas, embora sem haver diferenças quanto a porcentagem de parasitismo (Tabela 3). Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Wang et al. (1997) que observaram maior preferência de *T. ostrinae* em parasitar ovos de *O. nubilalis* nas regiões inferior e média da planta de milho, devido a estes serem os locais de maior concentração de posturas do hospedeiro. Porém, a maior disponibilidade de ovos em uma dada região da planta nem sempre significa um aumento no parasitismo por *Trichogramma*. Assim, Romeis et al. (1998; 1999) observaram que *Trichogramma chilonis* parasitou mais ovos de *Helicoverpa armigera* sobre as folhas de *Cajanus cajan* do que nas flores e vagens, mesmo ocorrendo maior disponibilidade de ovos de *H. armigera* sobre essas estruturas; estas diferenças, neste caso, foram devidas à presença de tricomas que prejudicaram o parasitismo.

Foram encontradas poucas espécies de *Trichogramma* parasitando as posturas de *S. frugiperda* (Figura 9). *T. pretiosum* foi a mais abundante, representando 93,79%. *T. atopovirilia* ocorreu em 2,07% das amostras. Observou-

se multiparasitismo, fenômeno comum em *Trichogramma*, pois em várias posturas ocorreram simultaneamente *T. pretiosum* e *T. atopovirilia*. O restante, 4,14%, foram espécies do gênero *Trichogramma* e um único exemplar de um outro gênero da família Trichogrammatidae, que não foi possível a identificação por ter emergido apenas uma fêmea (a identificação é baseada em machos) que não se multiplicou em ovos do hospedeiro alternativo *Anagasta kuehniella*. A predominância de *T. pretiosum* em relação a *T. atopovirilia*, também foi registrada por Cañete & Foerster (2000) em ovos de *Helicoverpa zea*. Segundo os autores, em levantamentos feitos durante os anos de 1998 e 1999 no sudoeste do Paraná, o parasitismo natural por *T. pretiosum* foi de 61,1 e 70,1%, respectivamente, sendo que *T. atopovirilia* e *Telenomus cyamophylax* responderam por 38,9 e 29,9% dos ovos parasitados, respectivamente.

Os registros sobre o parasitismo de ovos de *S. frugiperda* são escassos e as espécies mais comumente relatadas são pertencentes ao gênero *Telenomus* e *Trichogramma*. Estes últimos foram coletados em posturas de *S. frugiperda* na região de Sancti Spiritus, Cuba, por García & Sifontes (1987). O parasitismo observado para *Telenomus* foi de 46,9%, enquanto *Trichogramma* foi constatado em 4,3% das posturas. Sá (1991) também registrou a espécie *T. pretiosum* como o principal parasitóide em coletas feitas na fazenda Areão em Piracicaba, SP, local do presente trabalho.

Figura 9. Espécies de *Trichogramma* coletadas em posturas de *Spodoptera frugiperda* na fazenda Areão, Piracicaba, SP, durante o período agrícola de 1998 a 2000.

4.2. Seleção de linhagens de *T. pretiosum*

4.2.1. Biologia em ovos de *S. frugiperda*

O período de desenvolvimento variou de 10,13 a 9,61 dias, diferindo estatisticamente entre as linhagens estudadas ($F= 4,03$, $P= 0,00001$). Os menores valores para o período de desenvolvimento foram constatados para as linhagens Lsa₄, Lsg₁, Lsg₁₁ e Lsa₈, porém só detectando-se diferenças significativas entre estas e as linhagens Lsg₁₂ e Lsg₅. Observaram-se altos valores de viabilidade para a maioria das linhagens estudadas, sendo o maior deles para Lsg₁, que diferiu, significativamente, das linhagens, Lsa₃, Lsg₅, Lsg₁₆, Lsg₂₀, e Lsg₂₃ ($F= 8,50$, $P= 0,00001$) (Tabela 6). Essa alta viabilidade observada em ovos de *S. frugiperda* foi também constatada em diferentes hospedeiros por Sá & Parra (1994), Cônsoli & Parra (1996) e por Inoue & Parra (1998), para *T. pretiosum* sobre ovos de *H. zea* (95,0%), *Heliothis virescens* (94,29%) e *Sitotroga cerealella* (94,13%), respectivamente. Os períodos de desenvolvimento, embora tenham diferido entre as linhagens, foram próximos aos observados por Gomes & Parra (1998), que encontraram valores variando de 9,0 a 11,41 dias para *T. pretiosum* mantida em ovos de *A. kuehniella*, *Corcyra cephalonica* e *S. cerealella*, e foram menores que os observados por Sá & Parra (1994) para duas linhagens de *T. pretiosum* sobre ovos de *H. zea* (11,97 e 11,47).

A longevidade de *T. pretiosum* variou em função da linhagem estudada ($F= 22,45$, $P= 0,00001$) sendo, que Lsg₇, Lsg₃, Lsg₁, Lsg₁₈, Lsg₁₂, Lsg₂₉ e Lsg₁₁ apresentaram maiores valores em relação às demais, porém só diferiram, significativamente, das linhagens Lsg₈, Lg₄, Lsg₁₇, Lsg₂₀, Lsa₈, Lsa₃, Lsa₂, Lsg₂₃ e Lsg₅ (Tabela 7). As linhagens Lsg₁₈, Lsg₁₁ e Lsg₁ tiveram, ainda, maior capacidade de parasitismo (número médio de ovos parasitados, $F= 19,29$, $P= 0,00001$ e porcentagem de parasitismo $F= 19,07$, $P= 0,00001$) (Tabela 6), embora,

Tabela 6. Duração (dias) do período ovo-adulto, porcentagem de emergência, número de ovos parasitados e porcentagem de parasitismo de diferentes linhagens de *Trichogramma pretiosum* mantidas em ovos isolados de *Spodoptera frugiperda*. Temperatura de 25,0 ± 2,0 °C, U.R. 70 ± 10% e fotofase de 14horas.

	Duração (dias) ^{1,2}	Emergência (%) ¹	Nº de ovos parasitados ^{1,3}	Parasitismo (%) ^{1,4}
Lsa2	9,74 ± 0,01 bcd	86,00 ± 3,29abcd	17,03 ± 1,26 ij	41,58 ± 3,17 ij
Lsa3	9,81 ± 0,05abcd	55,77 ± 8,92 f	11,00 ± 1,97 j	27,50 ± 4,94 j
Lsa8	9,70 ± 0,15 cd	90,91 ± 1,50abc	24,70 ± 1,35 defgh	60,08 ± 3,23 efghi
Lsg1	9,62 ± 0,05 d	95,37 ± 0,97a	32,76 ± 0,72abc	81,92 ± 1,80abc
Lsg2	9,92 ± 0,02abcd	83,00 ± 2,56abcd	24,30 ± 1,22 defgh	60,68 ± 3,08 efgh
Lsg3	9,86 ± 0,05abcd	82,06 ± 4,63abcd	25,93 ± 1,27 defg	64,83 ± 3,19 defg
Lsg4	9,61 ± 0,07 d	92,67 ± 1,70ab	17,06 ± 1,27 ij	42,66 ± 3,19 ij
Lsg5	10,12 ± 0,02ab	76,00 ± 5,00 bcd	16,10 ± 1,14 j	39,91 ± 3,17 ij
Lsg7	9,77 ± 0,02abcd	94,32 ± 0,96ab	27,26 ± 1,69 bcdef	68,15 ± 4,24 cdef
Lsg8	10,03 ± 0,02abcd	85,54 ± 4,70abcd	23,86 ± 1,84 fghi	59,66 ± 4,60 efghi
Lsg11	9,65 ± 0,04 cd	93,82 ± 1,30ab	32,80 ± 0,77ab	82,00 ± 1,29ab
Lsg12	10,13 ± 0,02a	88,86 ± 3,43abc	28,93 ± 1,36abcd	72,33 ± 3,42abcd
Lsg16	10,05 ± 0,01abc	55,88 ± 6,82 ef	19,76 ± 1,87 ghij	49,41 ± 4,69 ghij
Lsg17	9,79 ± 0,03abcd	84,08 ± 1,88abcd	27,80 ± 1,21 bcdef	69,43 ± 3,03 bcdef
Lsg18	9,82 ± 0,01abcd	93,78 ± 0,81ab	34,13 ± 0,65a	89,33 ± 1,63a
Lsg19	10,04 ± 0,02abcd	90,89 ± 3,56abc	26,83 ± 1,73 cdef	67,41 ± 4,70 def
Lsg20	10,00 ± 0,03abcd	69,22 ± 5,03 def	19,76 ± 1,55 hij	49,41 ± 4,16 hij
Lsg23	9,99 ± 0,01abcd	73,75 ± 4,08 cde	23,86 ± 1,08 fghi	59,66 ± 2,73 efghij
Lsg26	10,01 ± 0,02abcd	86,99 ± 4,70abcd	25,86 ± 1,75 defgh	64,66 ± 4,37 defgh
Lsg29	9,75 ± 0,02dcb	83,58 ± 4,55abcd	28,40 ± 2,11 bcde	71,00 ± 5,28 bcde

¹Médias seguidas de mesmas letras, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P≤0,05).

^{2,3,4}Dados transformados em log (X), X² e X³, respectivamente.

Tabela 7. Longevidade, número de adultos emergidos/hospedeiro e razão sexual de diferentes linhagens de *Trichogramma pretiosum* mantidas em ovos isolados de *Spodoptera frugiperda*. Temperatura de $25,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$, U.R. $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14horas.

	Longevidade (dias) ^{1,2}	Nº de adultos/ ovo hospedeiro ^{1,2}	Razão sexual ^{1,3}
Lsa2	3,16 ± 0,30	1,34 ± 0,04 bcde	0,80 ± 0,01ab
Lsa3	3,56 ± 0,31	1,18 ± 0,05 def	0,79 ± 0,05ab
Lsa8	3,80 ± 0,47	1,21 ± 0,02 def	0,81 ± 0,01ab
Lsg1	8,96 ± 0,71ab	1,22 ± 0,02 cdef	0,76 ± 0,02ab
Lsg2	5,56 ± 0,43 cdef	1,55 ± 0,04a	0,75 ± 0,02ab
Lsg3	9,03 ± 0,50a	1,17 ± 0,03 ef	0,71 ± 0,03 b
Lsg4	4,13 ± 0,41	1,35 ± 0,05 bcd	0,71 ± 0,71 b
Lsg5	2,66 ± 0,19	1,47 ± 0,08ab	0,79 ± 0,02ab
Lsg7	9,93 ± 0,83a	1,15 ± 0,02 f	0,80 ± 0,02ab
Lsg8	4,60 ± 0,37	1,27 ± 0,03 bcdef	0,84 ± 0,02a
Lsg11	7,10 ± 0,55abcd	1,28 ± 0,02 bcdef	0,72 ± 0,02 b
Lsg12	7,83 ± 0,57abc	1,22 ± 0,02 cdef	0,80 ± 0,02ab
Lsg16	5,30 ± 0,52 defg	1,44 ± 0,05ab	0,81 ± 0,01ab
Lsg17	4,06 ± 0,59	1,39 ± 0,04abc	0,74 ± 0,03 b
Lsg18	8,26 ± 0,71abc	1,22 ± 0,02 cdef	0,79 ± 0,01ab
Lsg19	6,26 ± 0,63 cde	1,17 ± 0,02 ef	0,78 ± 0,02ab
Lsg20	3,80 ± 0,44	1,36 ± 0,04abcd	0,76 ± 0,03ab
Lsg23	3,10 ± 0,40	1,43 ± 0,04ab	0,75 ± 0,01ab
Lsg26	6,43 ± 0,68 bcde	1,23 ± 0,04 cdef	0,76 ± 0,02ab
Lsg29	7,80 ± 0,43abc	1,21 ± 0,02 def	0,76 ± 0,02ab

¹Médias seguidas de mesmas letras, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P≤0,05).

^{2,3}Dados transformados em, log (X) e X³, respectivamente.

tal parasitismo, tenha resultado em menor número de adultos emergidos por ovo de *S. frugiperda* ($F= 8,34$, $P= 0,00001$) (Tabela 7). O menor número de indivíduos por ovo hospedeiro, pode ser vantajoso para o desenvolvimento de *Trichogramma*, já que mais nutrientes estarão disponíveis para a sua assimilação e desenvolvimento, gerando com isto, indivíduos maiores e mais competitivos. Por outro lado, o aumento no número de adultos por hospedeiro, além de poder diminuir a qualidade do indivíduo gerado, poderá refletir na eficiência de controle, já que poderá resultar numa menor quantidade de ovos parasitados.

Valores distintos quanto a estes parâmetros, também foram encontrados por Gomes & Parra (1998) para diferentes linhagens de *T. pretiosum* sobre ovos de *A. kuehniella*. Segundo esses autores, o parasitismo de *T. pretiosum*, proveniente de *A. kuehniella*, sobre ovos do hospedeiro natural *Anticarsia gemmatalis* foi baixo, embora, o número de adultos emergidos por ovo hospedeiro tenha sido maior do que o observado no presente estudo.

A longevidade aliada à capacidade de parasitismo é um parâmetro importante quando se pretende utilizar um inimigo natural para o controle de uma praga, já que insetos mais longevos permanecem mais tempo no ambiente e são, teoricamente, capazes de parasitar um maior número de hospedeiros durante a fase adulta (Gomes & Parra 1998). Porém, deve-se ressaltar que a alta capacidade de parasitismo observada nesta pesquisa foi obtida pela forma individual em que foram oferecidos os ovos, eliminando-se, assim, as barreiras físicas da presença de escamas e distribuição dos ovos em camadas, comuns nas posturas de *S. frugiperda*.

Os valores da razão sexual, apesar de diferirem entre as linhagens ($F= 2,33$, $P= 0,0014$), podem ser considerados altos (Tabela 7), sendo superiores àqueles observados por Toonders & Sánchez (1990), de 0,51 para *Trichogramma* sp. em ovos de *S. frugiperda* e por Sá & Parra (1994), para duas linhagens de *T. pretiosum* sobre ovos de *H. zea*, que foram de 0,56 e 0,25. Em geral, os valores

encontrados para os parâmetros biológicos avaliados, evidenciam a boa adequação dos ovos de *S. frugiperda* ao desenvolvimento de *T. pretiosum*, o que sugere a possibilidade de sua utilização para o controle dessa praga.

De acordo com a análise de agrupamento, as linhagens se comportaram de forma diferente com relação às características biológicas avaliadas e, apesar delas serem provenientes de uma mesma região e de um mesmo hospedeiro, foram formados grupos distintos, segundo o grau de similaridade apresentado por cada um destes grupos (Figura 10).

Vários fatores podem determinar diferenças entre as linhagens, como as variações que ocorrem no comportamento de seleção hospedeira entre linhagens ou espécies de *Trichogramma* (Pavlik 1993), diferenças quanto à própria adequação aos ovos do hospedeiro ou pelo fato, das linhagens utilizadas terem sido mantidas por várias gerações em ovos do hospedeiro alternativo *A. kuehniella*, dificultando, assim, a aceitação de algumas linhagens por ovos do hospedeiro natural, *S. frugiperda*. Segundo Li et al. (1994), *Trichogramma* sp. nr. *sibericum* Sorokina após ser criado por várias gerações em ovos do hospedeiro alternativo, *Peridroma saucia*, diminuiu a sua capacidade de aceitar e parasitar ovos de seu hospedeiro natural *Rhopobota naevana*. Esta última hipótese, no entanto, pode ser rejeitada no presente trabalho, pois todas as linhagens foram mantidas por uma geração em ovos de *S. frugiperda* antes do início da fase experimental, como forma de minimizar o efeito da criação no hospedeiro alternativo. Sendo assim, as linhagens Lsg₁, Lsg₁₁ e Lsg₁₈, foram selecionadas por terem apresentado maior capacidade para parasitar e se desenvolver em ovos de *S. frugiperda* (Tabelas 5 e 6), além do alto grau de similaridade (>99,8%) quanto às características biológicas avaliadas (Figura 10).

Figura 10. Fenograma das linhagens de *Trichogramma pretiosum*, coletadas na região de Piracicaba, sobre ovos do hospedeiro natural *Spodoptera frugiperda*, resultante da análise de agrupamento realizada com base nos parâmetros biológicos avaliados (duração do período ovo-adulto, porcentagem de emergência, número de ovos parasitados, porcentagem de parasitismo, longevidade, número de adultos emergidos/hospedeiro e razão sexual).

4.2.2. Preferência hospedeira para oviposição: ovos de *S. frugiperda* x *A. kuehniella*

A frequência de contactos entre ovos de *S. frugiperda* e *A. kuehniella* foi diferente e altamente significativa ($\chi^2 = 9,79$, $P = 0,007$), ocorrendo diferenças na preferência hospedeira entre as três linhagens estudadas. Em geral, *T. pretiosum* preferiu *S. frugiperda* a *A. kuehniella* (Figura 11). As linhagens Lsg₁₁ e Lsg₁₈ tiveram maior frequência de contactos com ovos de *S. frugiperda* em relação a ovos de *A. kuehniella*, se comparadas à linhagem Lsg₁, o que revela a preferência daquelas duas por ovos do hospedeiro natural, já que existe uma forte relação entre número de contactos e parasitismo (Wührer & Hassan 1993). A frequência de contactos entre ovos do hospedeiro natural e do alternativo foi semelhante para Lsg₁ (Figura 11), podendo, com a continuidade da criação em *A. kuehniella*, haver uma mudança de preferência em direção ao hospedeiro alternativo e, segundo Hassan (1989), perda de efetividade no campo.

A preferência por ovos de *S. frugiperda*, das linhagens Lsg₁₁ e Lsg₁₈, mostra que, apesar destas serem mantidas por várias gerações em ovos de *A. kuehniella*, não perderam a sua capacidade de encontrar e parasitar ovos do hospedeiro natural, mantendo dessa forma, a sua agressividade e eficiência de controle. Entretanto, este resultado não é definitivo, pois nem sempre o maior tempo de contacto (exame), significa maior parasitismo. Assim, Wührer & Hassan (1993) observaram que *T. pretiosum* apesar de ter contactado ovos de *Plutella xylostella* por mais tempo, não apresentou taxas de parasitismo superiores àquelas do hospedeiro alternativo *S. cerealella*, podendo tal fato, ser atribuído a um maior gasto de tempo no exame dos ovos de *P. xylostella*.

Figura 11. Frequência média de contactos de fêmeas de três linhagens de *Trichogramma pretiosum* durante 45 min, sobre ovos de *Spodoptera frugiperda* e *Anagasta kuehniella* ($\chi^2 = 9,79$, $P = 0,007$). Temperatura de $25,0 \pm 2,0$ e U.R. $70 \pm 10\%$.

Ficou claro, no presente trabalho que existem variações no comportamento das linhagens com relação a ovos individualizados de *S. frugiperda*, e, que algumas delas não alteram o seu comportamento quando criadas no hospedeiro alternativo, continuando a preferir ovos do hospedeiro natural, como no caso das linhagens Lsg11 e Lsg18. Entretanto, sugere-se que sejam feitos estudos futuros visando à seleção de linhagens que tenham a capacidade de parasitar as diferentes camadas das posturas de *S. frugiperda*, pois o parasitismo de *T. pretiosum* pode ser dificultado pelas características das posturas deste inseto, colocadas em camadas sobrepostas e recobertas de escamas (Toonders & Sánchez, 1987).

4.3. Biologia, capacidade de parasitismo e preferência hospedeira: ovos de *S. frugiperda* X *A. kuehniella*, de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*

4.3.1. Biologia em ovos de *S. frugiperda*

Não houve diferenças significativas para o período de desenvolvimento ($F= 3,1$; $P= 0,08$) e a viabilidade ($F= 0,03$; $P=0,85$) de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* em ovos de *S. frugiperda* (Tabela 8). A adequação dos ovos de *S. frugiperda* ao desenvolvimento de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* foi comprovada pelo período de desenvolvimento e a alta viabilidade, que estão próximos às médias observadas para estas espécies criadas em outros hospedeiros, como mostram os resultados de Harrison et al. (1985) e Cõnsoli & Parra (1996), que observaram para *T. pretiosum* criada em ovos de *H. virescens*, um período de desenvolvimento de 10,7 e 10,3 dias e uma viabilidade de 99,3% e 94,29%, respectivamente; Inoue & Parra (1992) que constatarem uma sobrevivência média de 94,13% para *T. pretiosum* em ovos de *S. cerealella*; Navarro & Marcano (1997), que registraram uma porcentagem de emergência de *T. pretiosum* em ovos de *H. zea*, à 23 °C, de 100%, Hoffmann et al. (1995) que constatarem 98,5% de emergência de *T. ostriniae* em ovos de *S. frugiperda* e Greenberg et al. (1998a) que relataram um período de desenvolvimento e uma sobrevivência médios de 9,4 dias e 75,4%, respectivamente, para *T. pretiosum* em ovos de *Spodoptera exigua*. Por outro lado, Sá & Parra (1994) obtiveram períodos de desenvolvimento mais longos do que os da presente pesquisa para duas linhagens de *T. pretiosum* mantidas em ovos de *H. zea* e *A. kuehniella*, que variaram de 11,47 a 13,18 dias, respectivamente; entretanto, estes autores obtiveram também uma alta viabilidade média, de 88,0 a 95,0%.

Tabela 8. Parâmetros biológicos de *Trichogramma atopovirilia* e *Trichogramma pretiosum* em ovos de *Spodoptera frugiperda*. Temperatura $25,0 \pm 2$ °C, U.R. $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas.

Espécie	Ovo-adulto		Fase adulta		
	Duração (dias)	Emergência (%)	Longevidade (dias)	Nº de adulto/ovo	Razão sexual
<i>T. atopovirilia</i> (n= 38)	$9,80 \pm 0,04a^1$	$93,51 \pm 1,34a$	$5,47 \pm 0,50b$	$1,40 \pm 0,03a$	$0,75 \pm 0,02a$
<i>T. pretiosum</i> (n= 40)	$9,66 \pm 0,06a$	$93,81 \pm 0,97a$	$7,37 \pm 0,61a$	$1,27 \pm 0,03b$	$0,76 \pm 0,03a$

¹. médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de "F" (P<0,05)

Além da adequação do hospedeiro ao crescimento do parasitóide, fatores como temperatura, umidade relativa (Harrison et al., 1985; Gross 1988; Navarro & Marcano 1997; Basso et al., 1998; Inoue & Parra 1998), e procedência das linhagens (Bleicher & Parra 1989) podem interferir no desenvolvimento de *Trichogramma*. Segundo Bleicher & Parra (1989), *T. pretiosum* provenientes de diferentes localidades (Piracicaba, SP, Goiânia, GO e Iguatu, CE) apresentaram períodos de desenvolvimento que variaram de 9,73 a 11,08 dias, quando criados em um mesmo hospedeiro, *A. kuehniella*.

A longevidade diferiu estatisticamente ($F= 5,75$; $P=0,01$) entre as espécies. Em média, fêmeas de *T. pretiosum* foram mais longevas que aquelas de *T. atopovirilia* (Tabela 8), porém para ambas as espécies os valores observados foram inferiores àqueles de Sá & Parra (1994) e Cônsoli & Parra (1996), para *T. pretiosum* criada em ovos de *H. zea* e *H. virescens* que foram de 9,96 e 16,0 dias, respectivamente; e de Resende & Ciociolla (1996) e Cañete & Foerster (2000) para *T. atopovirilia* criada em ovos de *H. zea* e *A. gemmatalis*, que foram de 8 e 11,4 dias, respectivamente. Taís resultados diferem, ainda, de Prezotti et al.

(1997) que não constataram diferença na longevidade de fêmeas de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* criadas em ovos de *S. frugiperda*.

O número de adultos emergidos por ovo do hospedeiro foi, significativamente, maior para *T. atopovirilia* do que para *T. pretiosum* ($F= 7,22$; $P= 0,008$) (Tabela 8). Esses resultados concordam com os obtidos por Navarro & Marcano (1999) para *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* mantidas em ovos de *H. zea* que foram de 1,43 e 1,27, respectivamente, sendo inferiores àqueles observado para *T. pretiosum* por Harrison et al. (1985) em ovos de *H. virescens* e por Sá & Parra (1994) em ovos de *H. zea*, à 25°C, que foram de 3,2 e 2,26 adultos por ovo hospedeiro, respectivamente. Assim, considerando-se que a capacidade de parasitismo (ver discussão item 4.3.2.) e o número de adultos emergidos por ovo foram maiores para *T. atopovirilia* do que *T. pretiosum*, pode-se inferir que *T. atopovirilia* terá maior probabilidade de aumentar sua população em menor período de tempo do que *T. pretiosum*, sendo, aparentemente, mais adequado ao controle biológico de *S. frugiperda*.

Suzuki et al. (1984), chamaram a atenção para a competição intraespecífica quando há uma maior quantidade de *Trichogramma* se desenvolvendo por ovo hospedeiro, que resultará em indivíduos de menor tamanho e de baixa qualidade. A fecundidade de *Trichogramma* está diretamente ligada ao seu tamanho, e este irá depender, do número de parasitóides por ovo e do tamanho do hospedeiro (Bai et al., 1992; Greenberg et al., 1998a). No entanto os resultados, desta pesquisa mostram que em ovos de *S. frugiperda*, há quantidade suficiente de nutrientes para suportar o desenvolvimento de mais do que um parasitóide por ovo hospedeiro, sem interferir na qualidade do inseto produzido.

A razão sexual não diferiu entre as espécies ($F= 0,02$; $P= 0,87$) (Tabela 8) e está de acordo com os resultados obtidos para as linhagens de *T. pretiosum* no item 4.2.1. Para ambas as espécies a razão sexual foi composta de cerca de 70%

de fêmeas, o que difere dos resultados relatados por Prezzoti et al. (1997); que embora tenham constatado uma alta razão sexual para *T. atopovirilia* (mais de 80% de fêmeas), observaram uma baixa razão sexual para *T. pretiosum* (aproximadamente 40% de fêmeas) em ovos de *S. frugiperda*; e por Navarro & Marcano (1999) para *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* em ovos de *H. zea*, que foram de 56 e 49% de fêmeas, respectivamente.

A alta razão sexual observada para *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* embora possa ser uma característica inerente às duas espécies, devido a boa adequação dos ovos de *S. frugiperda* aos parasitóides, pode também estar relacionada ao tempo de parasitismo, 48 horas, que corresponde à fase inicial da vida adulta, época de maior atividade das fêmeas, na qual é produzido um maior número de fêmeas. Segundo estudos de Houseweart et al. (1983), Toonders & Sanchez (1987) e Hoffmann et al. (1995), fêmeas mais jovens tendem a colocar um maior número de ovos que darão origem a fêmeas, havendo uma inversão na razão sexual à medida que estas se tornam mais velhas. Assim, Hoffmann et al. (1995) constataram que *T. ostriniae* colocou 80% de fêmeas durante os 6 primeiros dias de vida, diminuindo esta proporção com a idade da fêmea, e Toonders & Sanchez (1987) observaram uma razão sexual de 50% de fêmeas para *Trichogramma* spp. em ovos de *S. frugiperda*, nos primeiros dias de parasitismo, caindo para 16% de fêmeas até o quinto dia de parasitismo. Uma outra hipótese para inversão na razão sexual com a idade da fêmea é, segundo Houseweart et al. (1983), a diminuição ou a falta de esperma na espermateca, devido a fêmea copular uma única vez, o que diminuiria a fertilização dos ovos e, conseqüentemente, o número de fêmeas.

4.3.2. Capacidade de parasitismo

A capacidade de parasitismo de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* foi afetada pelo tipo de postura de *S. frugiperda* (Tabela 9). Quanto ao número de ovos parasitados, houve interação significativa dos fatores espécie e tipo de postura ($F= 5,48$; $P=0,0018$), ou seja, a capacidade de parasitismo observada, diferiu, como resultado da diferença de potencial reprodutivo entre as espécies e da dificuldade imposta ao parasitismo, pelas barreiras físicas das posturas de *S. frugiperda*. Quanto à porcentagem de parasitismo, houve diferença significativa entre as espécies ($F= 48,09$; $P= 0,00001$) e entre as posturas ($F= 26,80$; $P= 0,00001$), mas não houve interação significativa destes fatores ($F= 2,01$; $P= 0,11$). Neste caso, a porcentagem de parasitismo independe da interferência mútua dos fatores espécie e tipo de postura (Tabela 9) e está relacionada à proporção entre o número de ovos por postura e a quantidade de ovos parasitados por *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*.

O número de ovos parasitados por *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* foi significativamente maior em posturas com uma e duas camadas sem escamas, do que em posturas com escamas. Exceto em posturas com alta densidade de escamas, não houve diferença significativa, quanto à porcentagem de parasitismo, entre posturas com baixa densidade de escamas e sem escamas (uma e duas camadas) para as duas espécies. Esse resultado é consequência da diferença entre o total de ovos por postura (que foi menor naquelas com baixa densidade de escamas do que nas posturas sem escamas) e o número de ovos parasitados, o que contribuiu para o aumento proporcional na porcentagem de ovos parasitados, não se detectando diferenças significativas entre estas posturas (Tabela 9). Contudo, a baixa capacidade de parasitismo observada em posturas com escamas mostram a dificuldade de *Trichogramma* em romper essa

Tabela 9. Capacidade de parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* e *Trichogramma pretiosum* em posturas de *Spodoptera frugiperda* com diferentes características físicas, em laboratório. Temperatura de 25,0 ± 2,0 °C, U.R. 70 ± 10% e fotofase de 14 horas.

Tratamento	n	Capacidade de parasitismo			
		Nº de ovos parasitados		Parasitismo (%)	
		<i>T. atopovirilia</i>	<i>T. pretiosum</i>	<i>T. atopovirilia</i>	<i>T. pretiosum</i>
Uma camada sem escamas	15	39,53 ± 1,85aA ¹ (n= 64,13) ²	24,13 ± 1,68bA	63,20 ± 3,73A ¹	38,41 ± 3,62A
Duas camadas sem escamas	15	38,40 ± 2,02aA (n= 70,13)	23,20 ± 1,78bA (n=75,13)	56,02 ± 3,19A	32,10 ± 2,76A
Uma camada e baixa densidade de escamas	15	26,86 ± 1,76aB (n=55,93)	15,86 ± 1,31bB (n=53,40)	50,87 ± 5,02A	33,63 ± 4,37A
Uma camada e alta densidade de escamas	15	10,93 ± 1,63aC (n=52,80)	7,73 ± 1,62aC (n=59,06)	23,14 ± 3,56 B	14,79 ± 3,57 B
Média geral	60	28,93 ± 1,74a	17,73 ± 1,16b	48,30 ± 2,75a	29,73 ± 2,11b

¹ médias seguidas de mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de

Tukey (p<0,05);

² número médio de ovos/ postura

barreira de escamas e parasitar os ovos sobrepostos, diminuindo a eficiência dessas espécies no controle de *S. frugiperda*. Por outro lado, quando se observa os valores da capacidade de parasitismo em posturas com uma e duas camadas sem escamas, vê-se que estas não diferiram significativamente.

O número de ovos parasitados por *T. atopovirilia* foi, significativamente, maior do que por *T. pretiosum*, exceto, em posturas com alta densidade de escamas (Tabela 9). Este resultado mostra que, nessas posturas, a grande quantidade de escamas presentes impediu que houvesse um aumento no número de ovos parasitados, estando estes, limitados aos ovos mais expostos na margem da postura, que provavelmente estavam em igual quantidade e abaixo da capacidade de parasitismo dessas duas espécies, o que contribuiu para a mesma proporção de ovos parasitados para *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*.

A diferença observada entre a capacidade de parasitismo de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* está de acordo com Prezotti et al. (1997) que observaram maior número de ovos de *S. frugiperda* parasitados por *T. atopovirilia* (26 ovos/fêmea) do que por *T. pretiosum* (12 ovos/fêmea); porém, para as duas espécies a capacidade de parasitismo foi menor do que a observada no presente estudo. Por outro lado, diferem dos resultados de Navarro & Marcano (1999), que constatarem maior número de ovos de *H. zea* parasitados por *T. pretiosum* em relação a *T. atopovirilia*.

Essa diferença na capacidade de parasitismo entre *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* pode estar associada à preferência ao hospedeiro e a maior fecundidade de *T. atopovirilia* em ovos de *S. frugiperda*. Segundo Rueda & Victoria (1993) a dificuldade em encontrar massas de ovos de *S. frugiperda* parasitadas por *Trichogramma*, está relacionada ao pequeno tamanho destes parasitóides, o que na presente pesquisa foi, aparentemente, superado por *T. atopovirilia*, provavelmente, por ser um parasitóide maior, mais agressivo e com maior especificidade à praga.

Dessa forma, procurou-se verificar se a maior capacidade de parasitismo de *T. atopovirilia* em relação a *T. pretiosum*, estaria associada ao maior tamanho das fêmeas, o que facilitaria a quebra das barreiras físicas da postura por esta espécie e contribuiria para sua melhor performance. Observou-se interação significativa dos fatores espécie e hospedeiro de criação com relação ao comprimento da tibia posterior ($F= 7,5$; $P=0,007$) sendo, o tamanho da fêmea dependente da espécie de *Trichogramma* e do hospedeiro no qual ela se desenvolveu. Quanto ao comprimento do ovipositor, só houve diferenças significativas quanto ao fator espécie ($F= 78,5$; $P= 0,00001$) e hospedeiro ($F= 82,7$; $P=0,00001$) não havendo interação significativa destes fatores ($F=2,15$; $P= 0,14$) (Tabela 10). O comprimento do ovipositor foi positivamente correlacionado com o comprimento da tibia posterior de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* provenientes de *S. frugiperda* ($t= 9,9$; $P= 0,000002$; $r= 0,92$ e $t= 8,7$; $P= 0,000004$; $r= 0,89$) e *A. kuehniella* ($t=2,2$; $P= 0,03$; $r= 0,46$ e $t= 4,3$; $P= 0,0006$; $r= 0,71$) (Figura 12), havendo uma relação direta entre tamanho da fêmea e o comprimento do ovipositor.

Fêmeas de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* tiveram maior comprimento da tibia posterior e do ovipositor, quando desenvolvidas em ovos de *S. frugiperda* em relação àquelas desenvolvidas em ovos de *A. kuehniella*. A justificativa pode estar ligada ao fato dos ovos de *S. frugiperda* (volume de $0,036 \text{ mm}^3$)¹ serem maiores, com maior quantidade de nutrientes para permitir o desenvolvimento e produzir indivíduos de maior tamanho do que em ovos de *A. kuehniella* (volume de $0,023 \text{ mm}^3$)¹. Resultado semelhante foi observado por Bai et al. (1992) onde ovos de *Manduca sexta* (Lepidoptera: Sphingidae) de maior volume

¹ Cónsoli, F. L.; E. W. Kitajima & J. R. P. Parra. 1999. Ultrastructure of the natural and factitious host eggs of *Trichogramma galloi* Zucchi and *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology* 28, p. 211-229.

Tabela 10. Comprimento (mm) da tíbia posterior e do ovipositor de *Trichogramma atopovirilia* e *Trichogramma pretiosum* criadas em ovos de *Spodoptera frugiperda* e *Anagasta kuehniella*. Temperatura de $25,0 \pm 2,0$ °C, U.R. $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas.

Hospedeiro	n	Comprimento da tíbia (mm) ¹		Comprimento do ovipositor (mm) ²	
		<i>T. atopovirilia</i>	<i>T. pretiosum</i>	<i>T. atopovirilia</i>	<i>T. pretiosum</i>
<i>S. frugiperda</i>	20	$0,1521 \pm 0,0027bA^3$	$0,1657 \pm 0,0030aA$	$0,1292 \pm 0,0016A^3$	$0,1446 \pm 0,0018A$
<i>A. kuehniella</i>	20	$0,1394 \pm 0,0008aB$	$0,1418 \pm 0,0014aB$	$0,1178 \pm 0,0008 B$	$0,1288 \pm 0,0015 B$
Média geral		$0,1457 \pm 0,0017 b$	$0,1537 \pm 0,0025 a$	$0,1235 \pm 0,0012 b$	$0,1367 \pm 0,0017 a$

^{1,2} dados transformados em x^2 e $\log x$, respectivamente

³ médias seguidas de mesma letra minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$)

que ovos de *Trichoplusia ni* (média de $0,06 \text{ mm}^3$), produziram fêmeas de *T. pretiosum* de maior tamanho. Porém Cônsoli & Parra (1996) não encontram diferenças significativas entre o comprimento da tíbia posterior de fêmeas de *T. pretiosum* criadas em ovos de *H. zea*, *A. kuehniella*, e “in vitro” que foram de $0,156$, $0,157$ e $0,155 \text{ mm}$, respectivamente.

Figura 12. Correlação entre o comprimento (mm) da tíbia posterior e do ovipositor de duas espécies de *Trichogramma*. (A) *Trichogramma atopovirilia* e (B) *Trichogramma pretiosum*, criadas em ovos de *Spodoptera frugiperda*. (C) *Trichogramma atopovirilia* e (D) *Trichogramma pretiosum*, criadas em ovos de *Anagasta kuehniella*. Temperatura de $25 \pm 2,0$ °C, U.R. $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas.

Fêmeas de *T. pretiosum* provenientes de ovos de *S. frugiperda* tiveram maiores comprimentos da tíbia posterior do que fêmeas de *T. atopovirilia*, não havendo diferença, significativa, entre estas provenientes de ovos de *A. kuehniella*. O menor tamanho de *T. atopovirilia* pode ser explicado pelo maior número de indivíduos desenvolvendo-se por ovo de *S. frugiperda* (Tabela 8), pois, segundo Waage & Ming (1984) existe uma relação inversa entre a densidade de *Trichogramma* por ovo hospedeiro e o tamanho do parasitóide.

Os valores encontrados para o tamanho da tíbia posterior de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* provenientes de ovos do hospedeiro natural, *S. frugiperda*, estão dentro do intervalo encontrado por Olson & Andow (1998), para *T. maidis* em ovos de *O. nubilalis*, que variou de 0,14 a 0,18 mm. Para *T. pretiosum* o comprimento da tíbia posterior observado neste estudo foi igual àqueles obtidos por Bai et al. (1992) e próximos aos resultados de Cònsoli & Parra (1996), para esta espécie proveniente de ovos de *H. zea* e *A. kuehniella*, que foram de 0,16 e 0,14 mm e 0,157 e 0,156mm, respectivamente.

O comprimento da tíbia posterior é uma medida que serve como parâmetro do tamanho da fêmea de *Trichogramma*, e se correlaciona positivamente com a capacidade dos machos localizarem as fêmeas para acasalar e com a capacidade de localização do hospedeiro, longevidade e fecundidade das fêmeas (Waage & Ming 1984; Bai et al., 1992; Greenberg et al., 1998a; Olson & Andow 1998). Considerando-se que, a capacidade de parasitismo de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* foi avaliada com espécies provenientes de ovos de *A. kuehniella* e, que não houve diferença de tamanho entre fêmeas provenientes deste hospedeiro, os resultados mostram que a maior capacidade de parasitismo de *T. atopovirilia* não está associada ao seu tamanho, mas à sua maior agressividade e especificidade em ovos de *S. frugiperda*, se comparado a *T. pretiosum*. Sendo assim, fica evidenciado que, em condições de laboratório, *T. atopovirilia* tem maior capacidade de parasitismo em

posturas de *S. frugiperda* do que *T. pretiosum*. No entanto, ficou claro que é a densidade de escamas e não o número de camadas, o fator mais importante neste parasitismo, já que esta funciona como uma barreira física que dificulta o parasitismo, mesmo para as espécies mais agressivas como *T. atopovirilia*.

4.3.3. Preferência hospedeira para oviposição: ovos de *S. frugiperda* x *A. kuehniella*

A análise da frequência de contactos entre ovos de *S. frugiperda* e *A. kuehniella* foi significativa ($\chi^2= 6,87$, $P= 0,09$), existindo diferenças na preferência hospedeira entre *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*, porém sem interação significativa dos fatores espécie e hospedeiro quanto ao número de ovos parasitados ($\chi^2= 2,15$, $P=0,14$) (Figura 13). Em geral, a frequência de contacto em ovos de *S. frugiperda* foi maior do que em ovos de *A. kuehniella*, contribuindo para o aumento no número de ovos de *S. frugiperda* parasitados por *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*. Estudos feitos por Hassan & Guo (1991), Wührer & Hassan (1993) e Li et al. (1994) mostraram a perda ou a diminuição na preferência pelo hospedeiro natural quando *Trichogramma* é criada por várias gerações sobre o hospedeiro alternativo, o que segundo Hassan (1989) é um indicativo da perda de eficiência no campo. Assim, *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* mantiveram a preferência pelo hospedeiro natural mesmo tendo sido criadas por várias gerações no hospedeiro alternativo, e mantiveram, portanto, a agressividade e eficiência de parasitismo em ovos de *S. frugiperda*.

A

B

Figura 13. Preferência de *Trichogramma atopovirilia* e *Trichogramma pretiosum* durante 45 min, sobre ovos de *Spodoptera frugiperda* e *Anagasta kuehniella*. Temperatura de $25,0 \pm 2,0$ °C e U.R. de $70 \pm 10\%$ (A) Frequência média de contactos ($\chi^2= 6,87$, $P=0,09$), (B) número médio de ovos parasitados ($\chi^2= 2,15$, $P= 0,14$).

A frequência de contactos em ovos de *S. frugiperda* contribuiu para o aumento no número de ovos parasitados por *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*, mostrando que existe uma relação direta entre frequência de contacto e parasitismo. Porém, *T. atopovirilia* contactou mais e tendeu a parasitar mais ovos de *S. frugiperda* do que os de *A. kuehniella* se comparado a *T. pretiosum*. A explicação para esta diferença pode estar relacionada à maior especificidade de *T. atopovirilia* a ovos de *S. frugiperda*, como relatado por Rueda & Victoria (1993) ou, a uma diminuição na preferência pelo hospedeiro natural, como consequência do condicionamento pré-imaginal, resultante da criação de *T. pretiosum* no hospedeiro alternativo, o que é corroborado por Wührer & Hassan (1993); estes autores não observaram correlação entre a frequência de contactos e parasitismo, e detectaram uma diminuição na preferência de *T. pretiosum* por ovos de *P. xylostella* após ser criada em ovos de *S. cerealella*. Sendo assim, pode-se considerar que *T. atopovirilia* apresentou maior aceitação pelo ovo do hospedeiro natural, mostrando-se mais agressiva e com maior potencial para o controle de *S. frugiperda* do que *T. pretiosum*, confirmando os resultados obtidos em 4.3.2.

4.4. Comportamento de parasitismo de *T. pretiosum* e *T. atopovirilia* em posturas de *S. frugiperda* com diferentes barreiras físicas

4.4.1. Descrição geral

O comportamento de parasitismo de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* é bastante similar e segue o padrão descrito para outras espécies deste gênero tais como: *T. chilonis* (Suzuki et al., 1984), *Trichogramma maidis* (Kaiser et al., 1989), *Trichogramma brassicae* (Blanché et al., 1996), *T. nubilale* e *T. ostrinae* (Olson & Andow 1997), *Trichogramma galloi* e *T. pretiosum* (Consôli 1998), e *Trichogramma australicum* (Nurindah et al., 1997; 1999). Assim, a fêmea ao encontrar o ovo do hospedeiro realiza: 1) **exame externo**, caracterizado por contatos das antenas com a superfície externa do ovo enquanto caminha sobre o mesmo e avalia o seu volume para determinação do número de indivíduos a ser depositado; 2) **penetração do ovipositor e reconhecimento interno do hospedeiro**, através de movimentos abdominais verticais, seguindo-se a completa inserção do ovipositor; 3) **oviposição** propriamente dita. Após o término da oviposição, a fêmea remove o ovipositor, deixando apenas a sua extremidade inserida sobre ovo, e passa a **marcá-lo** executando movimentos abdominais em sentido horário ou anti-horário. Após a oviposição, a fêmea, em muitos casos, passa a se alimentar do fluido extravasado do orifício de oviposição (Figura 14).

A alimentação ocorreu sempre após a oviposição e foi observada em 43,59% e 67,53% das fêmeas, com um tempo médio de $73,26 \pm 11,57$ e $64,04 \pm 7,05$ segundos, respectivamente, para *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*. O período de ocorrência e o tempo gasto na alimentação poderão ocorrer em função do

Figura 14. Comportamento de oviposição de *Trichogramma atopovirilia* em ovo de *Spodoptera frugiperda*: exame externo (A); penetração do ovipositor e reconhecimento interno (B); oviposição (C e D); marcação (E) e alimentação (F).

hospedeiro de criação e, conseqüentemente, da necessidade nutricional do parasitóide, como constatado por Nurindah et al., (1997) para fêmeas de *T. australicum*. Estas se alimentam antes ou após a oviposição, dependendo da origem do biótipo, se proveniente de ovos de *H. armigera*, *S. cereallela* ou da criação “in vitro”, e gastaram, em média, 52,4; 58,9 e 139,1 segundos, respectivamente. Segundo esses autores, a alimentação contribui para aumentar a performance reprodutiva da fêmea, porém quando ocorre antes da oviposição, em espécies criadas “in vitro”, reflete a falta de algum nutriente na dieta artificial consumida pela larva do parasitóide, necessário para melhorar o seu desempenho e fornecer energia adicional para maturação dos ovos.

Associado ao comportamento de alimentação de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*, constatou-se que as fêmeas, após se alimentarem, caminhavam arrastando a extremidade abdominal, como se espalhassem o líquido extravasado do orifício de oviposição sobre a superfície do ovo. Esse comportamento, por vezes, foi intercalado com movimentos das antenas tocando a superfície por onde percorreu a extremidade abdominal, associados com contatos do aparato bucal sobre esta área, seguidos ou não de nova alimentação. Kaiser et al., (1989) descreveram este movimento de arrastar o abdome sobre a superfície do ovo como um comportamento de marcação de *T. maidis* sobre a superfície externa do ovo de *O. nubilalis*. Nurindah et al., (1997) descreveram comportamento semelhante para *T. australicum*, como um segundo exame externo do ovo hospedeiro, após a primeira oviposição, seguido por novo parasitismo.

Não foram encontradas evidências de que este movimento do abdome sobre a superfície do ovo estivesse associado à marcação externa do hospedeiro por *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*. Entretanto, duas observações merecem

destaque: (1) Que este comportamento não foi apresentado por todas as fêmeas, mas, exclusivamente, por aquelas que se alimentaram, estando portanto, associado ao comportamento de alimentação e (2) que a rejeição de um ovo parasitado ocorreu sempre durante a etapa de avaliação interna, indicando a presença de um marcador.

Com base nos tempos das diversas etapas do comportamento de oviposição de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*, dois aspectos do comportamento podem ser discutidos: (1) se a fêmea reconhecia e rejeitava o ovo por ela parasitado e (2) se a experiência de *Trichogramma* spp. após parasitar o primeiro ovo na postura de *S. frugiperda*, implicaria na redução do tempo gasto durante o comportamento de oviposição nos ovos subseqüentes, indicando a existência de aprendizado nas espécies estudadas. Neste último, optou-se por avaliar os resultados referentes ao tratamento com posturas de uma camada e sem escamas, como forma de se isolarem os efeitos adversos, devido à distribuição dos ovos em camadas e da presença de escamas, sobre o comportamento do inseto.

Quando da rejeição do ovo parasitado, a fêmea, após examinar externamente o ovo, realizava os movimentos abdominais que caracterizam a penetração do ovipositor e reconhecimento interno, e a marcação, sem, no entanto, apresentar movimentos que caracterizavam a oviposição. Não se observou redução no tempo durante o reconhecimento externo, com exceção do tempo gasto por *T. atopovirilia* em posturas com escamas (Tabela 11). Provavelmente, esta redução reflete mais um efeito das escamas sobre o comportamento do inseto do que propriamente uma diminuição, como reflexo do reconhecimento do ovo parasitado, já que não observou-se a rejeição durante esta etapa. Porém, as etapas de reconhecimento interno e marcação, foram bastante reduzidas (Tabelas 12 e 13) para ambas espécies em todos os

Tabela 11. Redução (%) no tempo (segundos) gasto durante o reconhecimento externo do ovo de *Spodoptera frugiperda* por *Trichogramma atopovirilia* e *Trichogramma pretiosum* quando da avaliação de um ovo já parasitado.

Tipo de postura	T. atopovirilia			T. pretiosum		
	Primeiro ¹ contato	Segundo ² contato	Porcentagem de redução (%)	Primeiro contato	Segundo contato	Porcentagem de redução (%)
Uma camada sem escamas	23,9 ± 1,3	24,9 ± 2,3	-4,56	15,9 ± 0,7	17,6 ± 1,3	-10,33
Duas camadas sem escamas	29,1 ± 1,2	30,6 ± 3,4	-5,22	20,1 ± 1,2	18,1 ± 1,4	9,65
Uma camada e baixa densidade de escamas	30,4 ± 2,0	24,1 ± 1,3	20,76	21,7 ± 1,3	22,3 ± 2,2	-2,85
Uma camada e alta densidade de escamas	31,2 ± 2,4	22,6 ± 2,1	27,30	23,9 ± 1,5	25,2 ± 3,3	-5,52
Média geral	28,6 ± 1,7	25,6 ± 2,3	9,57	20,4 ± 1,2	20,8 ± 2,0	-2,26

¹. Contato com um ovo hospedeiro não parasitado; ² contato com o ovo hospedeiro após ter sido parasitado.

Tabela 12. Redução (%) no tempo (segundos) gasto durante a penetração do ovipositor e reconhecimento interno, e marcação do ovo de *Spodoptera frugiperda* parasitado por *Trichogramma atopovirilia* quando da avaliação de um ovo já parasitado.

Tipo de postura	Penetração do ovipositor e reconhecimento interno (seg)			Marcação do ovo parasitado (seg)		
	Primeiro ¹ contato	Segundo ² contato	Porcentagem de redução (%)	Primeiro contato	Segundo contato	Porcentagem de redução (%)
Uma camada sem escamas	44,7 ± 3,5	26,1 ± 3,2	41,66	12,9 ± 0,5	6,8 ± 0,6	47,29
Duas camadas sem escamas	38,2 ± 1,9	26,8 ± 2,2	29,82	14,7 ± 0,3	7,1 ± 0,4	51,49
Uma camada e baixa densidade de escamas	53,2 ± 7,0	30,7 ± 5,5	42,22	14,6 ± 0,6	5,8 ± 0,8	60,27
Uma camada e alta densidade de escamas	73,0 ± 5,5	43,5 ± 10,5	40,32	15,2 ± 0,6	8,4 ± 1,7	44,57
Média geral	52,3 ± 4,5	31,8 ± 5,3	38,50	14,3 ± 0,5	7,0 ± 0,9	50,90

¹. Contato com um ovo hospedeiro não parasitado; ² contato com o ovo hospedeiro após ter sido parasitado.

Tabela 13. Redução (%) no tempo (segundos) gasto durante a penetração do ovipositor e reconhecimento interno, e marcação do ovo de *Spodoptera frugiperda* parasitado por *Trichogramma pretiosum* quando da avaliação de um ovo já parasitado.

Posturas	Penetração do ovipositor e reconhecimento interno (seg)			Marcação do ovo parasitado (seg)		
	Primeiro ¹	Segundo ²	Porcentagem de redução (%)	Primeiro	Segundo	Porcentagem de redução (%)
	contacto	contacto		contacto	contacto	
Uma camada sem escamas	23,2 ± 0,6	15,2 ± 0,8	34,38	9,4 ± 0,2	6,3 ± 0,6	33,08
Duas camadas sem escamas	32,3 ± 2,5	20,6 ± 1,7	36,21	11,4 ± 0,4	6,8 ± 0,6	40,17
Uma camada e baixa densidade de escamas	39,7 ± 2,1	26,8 ± 2,8	32,45	12,1 ± 0,4	7,6 ± 0,8	37,11
Uma camada e alta densidade de escamas	41,1 ± 2,1	24,7 ± 2,2	39,80	12,4 ± 0,4	6,5 ± 0,7	47,35
Média geral	34,1 ± 1,8	21,8 ± 1,9	35,71	11,3 ± 0,4	6,8 ± 0,6	39,43

1. Contato com um ovo hospedeiro não parasitado; 2. contato com o ovo hospedeiro após ter sido parasitado.

tratamentos. Estes resultados discordam dos observados por Suzuki et al., (1984), que não encontraram redução no tempo das etapas do comportamento quando fêmeas de *T. chilonis* ovipositaram em um ovo de *Papilio xuthus* já parasitado.

Do total de ovos parasitados por *T. atopovirilia* (523 ovos) e *T. pretiosum* (502 ovos), 16,25% (85 ovos) e 36,65% (184 ovos), respectivamente, foram reexaminados pelas fêmeas, reiniciando, a seguir, a série comportamental a partir do reconhecimento externo. A rejeição desses ovos por *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* foi de 89,41% e 81,52%, respectivamente, ocorrendo sempre durante o reconhecimento interno, o que indica a capacidade de discriminar o ovo parasitado, provavelmente, devido à presença de algum marcador interno, como observado por Pak et al. (1986) para *T. brassicae*, que reconhece um ovo parasitado, por meio de estímulos internos. Assim, a rejeição do ovo parasitado por *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* ficou evidenciada pela redução do tempo durante a penetração do ovipositor e reconhecimento interno, e pela ausência dos movimentos abdominais que caracterizam a oviposição.

Exceto quando da etapa de penetração do ovipositor e reconhecimento interno de *T. atopovirilia*, fêmeas de ambas as espécies, após parasitarem o primeiro ovo na postura de *S. frugiperda*, diminuíram, significativamente, o tempo para cada etapa do comportamento de parasitismo, tendendo, estes tempos, a se estabilizarem após o 2º ou 3º ovo parasitado (Figura 15). Assim, há uma diminuição sucessiva no tempo durante o comportamento de parasitismo que pode está relacionado à experiência adquirida pela fêmea quando do primeiro ovo parasitado. Este padrão de comportamento tem sido observado para outras espécies deste gênero como, *T. maidis* (Wajnberg 1989), *T. nr. pretiosum* (Thomson & Stinner 1990) e *T. australicum* (Nurindah et al., 1997

e 1999), e é conhecido como aprendizado associativo ou α - condicionamento (Vinson 1998).

O aprendizado associativo está relacionado à percepção dos estímulos químicos e/ou físicos do primeiro hospedeiro parasitado, que possibilitam o reconhecimento e aceitação dos hospedeiros subseqüentes (Kaiser et al., 1989; Nurindah et al., 1997), ou segundo Corbet (1985), aos estímulos do hospedeiro percebidos pelo parasitóide durante o seu desenvolvimento embrionário que irão influenciar a resposta quimiosensorial dos adultos. Esta última hipótese, está relacionada ao condicionamento pré-imaginal e explica, em parte, o maior tempo gasto no comportamento de oviposição do primeiro ovo de *S. frugiperda* parasitado por *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*. Como estes foram mantidos por várias gerações em ovos de *A. kuenhiella*, as fêmeas, provavelmente, condicionadas aos componentes químicos desse hospedeiro durante o desenvolvimento larval, gastaram mais tempo em reconhecer e aceitar o ovo de *S. frugiperda* como hospedeiro. No entanto, após o primeiro ovo parasitado, as fêmeas passaram a reconhecer os estímulos químicos presentes no ovo de *S. frugiperda*, o que contribuiu para diminuir o tempo do comportamento de parasitismo nos ovos subseqüentes.

O comportamento de parasitismo de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* é influenciado pela experiência adquirida pela fêmea após o primeiro ovo parasitado. No entanto, este resultado não é conclusivo e apenas mostra uma redução no tempo de cada etapa do comportamento, dando uma indicação da existência de aprendizado associativo em *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*. Uma das questões a ser ressaltada, é que o estudo foi feito em posturas, com vários ovos agrupados, e alterações no comportamento ocorrem em função da localização do ovo na postura, como observado para *Trichogramma minutum* por Schmidt & Smith (1985). Ovos que estão localizados mais ao centro da postura

Figura 15. Variação no tempo (segundos) em cada etapa do comportamento de parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* (A) e *Trichogramma pretiosum* (B) de acordo com a seqüência de ovos parasitados de *Spodoptera frugiperda*. Símbolos em cada linha seguidos de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

têm menor superfície de área exposta e a fêmea tende a gastar menos tempo examinando-os em relação àqueles mais externos, o que altera a resposta do inseto quando se quer avaliar o aprendizado como base no tempo gasto durante o comportamento de parasitismo. Assim, são necessários estudos mais específicos que dêem indicação de mecanismos associados ao aprendizado nestas espécies.

4.4.2. Efeito das barreiras físicas das posturas de *S. frugiperda* no comportamento de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*.

Considerando-se apenas as fêmeas que parasitaram, constatou-se que o tempo gasto em cada etapa do comportamento de oviposição de *Trichogramma* spp. variou de acordo com as barreiras físicas das posturas de *S. frugiperda*. Para as duas espécies de *Trichogramma* estudadas, o tempo gasto em cada etapa do comportamento de oviposição aumentou e o número de ovos parasitados diminuiu, significativamente, com a presença de escamas sobre a postura (Tabelas 14 e 15). Em posturas com escamas a fêmea encontrou dificuldade em caminhar e se posicionar sobre o ovo, o que contribuiu para aumentar o tempo gasto, principalmente, durante a penetração do ovipositor e, conseqüentemente, no tempo total sobre cada ovo parasitado (Tabela 14).

Só foram observadas interações, significativas, dos fatores espécies (*T. atopovirilia* e *T. pretiosum*) e tratamentos (tipo de posturas), para a duração do período de penetração do ovipositor ($F= 10,6$; $P=0,0001$), tempo total sobre cada ovo parasitado ($F= 2,7$; $P= 0,04$) e número de ovos parasitados ($F= 4,8$; $P=0,009$) (Tabelas 14 e 15). Esses resultados mostram que *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* apresentam diferenças quanto ao, tempo de penetração do ovipositor e reconhecimento interno, tempo total gasto em cada ovo parasitado e número de ovos parasitados, e que, para cada espécie o tempo em cada etapa do

Tabela 14. Duração (s) de cada etapa de comportamento de *Trichogramma atopovirilia* e *Trichogramma pretiosum* em posturas de *Spodoptera frugiperda* com diferentes características físicas. Tempo de observação 20 minutos.

Tratamento	Etapas de comportamento (s)	
	<u>Reconhecimento externo¹</u>	
	<i>T. atopovirilia</i>	<i>T. pretiosum</i>
Uma camada sem escamas	23,90 ± 1,3A ³ (n=20)	15,9 ± 0,7 A (n=20)
Duas camadas sem escamas	29,1 ± 1,2AB (n=20)	20,1 ± 1,2 B (n=20)
Uma camada e baixa densidade de escamas	30,4 ± 2,0 B (n=20)	21,7 ± 1,3 B (n=19)
Uma camada e alta densidade de escamas	31,20 ± 2,4 B (n=18)	23,93 ± 1,5 B (n=18)
Média geral	28,6 ± 0,9a	20,4 ± 0,7b
	<u>Penetração do ovipositor e reconhecimento</u>	
	<i>T. atopovirilia</i>	<i>T. pretiosum</i>
Uma camada sem escamas	44,7 ± 3,5bA ³ (n=20)	23,2 ± 0,6aA (n=20)
Duas camadas sem escamas	38,2 ± 1,9bA (n=20)	32,3 ± 2,5aB (n=20)
Uma camada e baixa densidade de escamas	53,2 ± 7,0bB (n=20)	39,7 ± 2,1aC (n=19)
Uma camada e alta densidade de escamas	73,0 ± 5,5bC (n=18)	41,1 ± 2,1aC (n=18)
Média geral	52,3 ± 2,8a	34,1 ± 1,3b
	<u>Oviposição²</u>	
	<i>T. atopovirilia¹</i>	<i>T. pretiosum</i>
Uma camada sem escamas	43,9 ± 4,2A ³ (n=20)	38,3 ± 2,5 A (n=20)
Duas camadas sem escamas	41,5 ± 3,6A (n=20)	54,8 ± 6,4AB (n=20)
Uma camada e baixa densidade de escamas	62,6 ± 14,0A (n=20)	54,7 ± 7,8AB (n=19)
Uma camada e alta densidade de escamas	53,0 ± 7,6A (n=18)	62,09 ± 4,9 B(n=18)
Média geral	50,2 ± 4,3b	52,5 ± 3,1a
	<u>Tempo total médio em cada ovo parasitado²</u>	
	<i>T. atopovirilia¹</i>	<i>T. pretiosum</i>
Uma camada sem escamas	125,8 ± 8,2 bA ³ (n=20)	87,2 ± 2,8aA (n=20)
Duas camadas sem escamas	123,60 ± 6,0 aA (n=20)	118,6 ± 9,7aB (n=20)
Uma camada e baixa densidade de escamas	160,2 ± 19,5aAB (n=20)	128,3 ± 9,3aBC (n=19)
Uma camada e alta densidade de escamas	171,7 ± 12,3aB (n=18)	139,8 ± 7,2aC (n=18)
Média geral	145,3 ± 12,1b	118,5 ± 7,3a

1,2. dados transformados em log x e x⁻¹, respectivamente.

3. médias seguidas de mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas, não diferem entre si, pelo teste PLSD (p<0,05)

Tabela 15. Tempo (s) de permanência da fêmea sobre a postura, intervalo de tempo percorrido entre ovos parasitados e número de ovos parasitados por *Trichogramma atopovirilia* e *Trichogramma pretiosum* em posturas de *Spodoptera frugiperda* com diferentes características físicas. Tempo de observação 20 min.

Tratamento	Comportamento (s)	
	<u>Tempo de permanência da fêmea sobre a</u>	
	<i>T. atopovirilia</i>	<i>T. pretiosum</i>
Uma camada sem escamas	1168,5 ± 11,8A ³ (n=20)	1151,8 ± 11,1A (n=20)
Duas camadas sem escamas	1187,3 ± 6,7A (n=20)	1142,1 ± 8,5A (n=20)
Uma camada e baixa densidade de escamas	1136,8 ± 15,0A (n=20)	1050,4 ± 15,0 B (n=19)
Uma camada e alta densidade de escamas	1028,3 ± 48,6 B (n=18)	746,1 ± 76,3 C (n=30)
Média geral	1130,2 ± 47,9a	1022,6 ± 31,6b
<u>Intervalo entre ovos parasitados²</u>		
	<i>T. atopovirilia</i>	<i>T. pretiosum</i>
Uma camada sem escamas	9,7 ± 1,5A ³ (n=20)	13,3 ± 2,3A (n=20)
Duas camadas sem escamas	8,4 ± 0,9A (n=20)	15,6 ± 2,0A (n=20)
Uma camada e baixa densidade de escamas	32,5 ± 4,7 B (n=20)	46,8 ± 5,5 B (n=19)
Uma camada e alta densidade de escamas	94,2 ± 23,4 C (n=18)	128,1 ± 31,3 C (n=18)
Média geral	36,2 ± 6,6a	51,0 ± 9,0b
<u>Número de ovos parasitados</u>		
	<i>T. atopovirilia</i>	<i>T. pretiosum</i>
Uma camada sem escamas	7,9 ± 0,5bA ³ (n=20)	9,5 ± 0,4aA (n=20)
Duas camadas sem escamas	8,2 ± 0,4aA (n=20)	7,0 ± 0,5aB (n=20)
Uma camada e baixa densidade de escamas	5,6 ± 0,4 aB (n=20)	4,8 ± 0,4aC (n=19)
Uma camada e alta densidade de escamas	4,1 ± 0,5aC (n=18)	2,2 ± 0,4 bD (n=30)
Média geral	6,4 ± 0,3a	5,9 ± 0,3a

^{1,2} dados transformados em x^{-1} e $x^{-0,1}$, respectivamente.

³ médias seguidas de mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas, não diferem entre si, pelo teste PLSD ($p < 0,05$)

comportamento e o número de ovos parasitados, serão modificados em função das barreiras físicas das posturas de *S. frugiperda*.

Embora, os tempos para cada etapa do comportamento de parasitismo de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*, tenham sido aumentados de acordo com os tratamentos, os valores observados são próximos aos encontrados por Wajnberg (1989) para *T. maidis* parasitando em ovos de *A. kuehniella* e inferiores àqueles observados por, Suzuki et al. (1984) para *T. chilonis* sobre ovos de *P. xuthus*; Pak et al. (1986, 1990) para *T. maidis*, *T. brassicae* e *Trichogramma evanescens* quando parasitaram ovos de *Mamestra brassicae*, *Pieris brassicae* e *Pieris rapae*; Nurindah et al. (1997, 1999) para *T. australicum* parasitando ovos de *H. armigera*, e por Consôli (1998) para *T. pretiosum* em ovos de *S. frugiperda*, as quais foram ofertados ovos isolados sem a presença de escamas.

As diferenças observadas no presente trabalho para os tempos de duração das etapas do comportamento de oviposição de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*, com relação aos resultados de outros autores, podem ser atribuídas, às diferenças de padrões de comportamento que são inerentes a cada espécie de *Trichogramma*, e ao tipo de ovo do hospedeiro, que nas espécies estudadas por Suzuki et al. (1984); Pak et al. (1986, 1990) e Nurindah et al. (1997, 1999) e Consôli (1998), eram ofertados ovos isolados aos parasitóides, enquanto que no presente estudo, foram fornecidos ovos de *S. frugiperda* agrupados em posturas, com menores distâncias entre si, menor área superficial e, aparentemente, menor volume hospedeiro, o que segundo Schmidt & Smith (1985) contribui para diminuir o tempo de avaliação do ovo parasitado por *Trichogramma* spp. De acordo com esses autores, fêmeas de *Trichogramma* fazem uma estimativa do volume total do ovo com base na área superficial exposta para definir a progênie a ser depositada, havendo uma relação entre superfície de área exposta, tempo de avaliação e número de descendentes postos por ovo do hospedeiro. Assim, em insetos que põe os ovos em massas, como por exemplo

S. frugiperda, estes aparentam ter menor volume e superfície de área devido ao contato com os ovos vizinhos, o que contribui para diminuir o tempo de avaliação e oviposição e, conseqüentemente, o número de indivíduos por ovo do hospedeiro.

Além do volume, características, como espessura e dureza do cório, são fatores que podem afetar o comportamento da fêmea de *Trichogramma* (Schmidt, 1994). No entanto, essas características parecem não interferir no parasitismo por *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* em ovos de *S. frugiperda*, já que na ausência de escamas houve uma aceitação por 100% das fêmeas testadas. Esses resultados são corroborados por Consôli (1998), onde 93% das fêmeas aceitaram ovos de *S. frugiperda* com pouca quantidade de escamas, confirmando, que a presença de escamas, funciona como uma barreira ao parasitismo por *Trichogramma* spp.

Constatou-se que o tempo que a fêmea permaneceu parasitando sobre a postura foi positivamente correlacionado com o número de ovos parasitados, tanto para *T. atopovirilia* ($t = 5,8$; $P = 0,00008$; $r = 0,56$) como para *T. pretiosum* ($t = 15,5$; $P = 0,00001$; $r = 0,85$) (Figura 16) e, estes parâmetros foram, significativamente, menores em posturas com escamas (Tabela 15). Não houve interação significativa com relação ao tempo que a fêmea permaneceu parasitando sobre a postura, para os efeitos espécies (*T. atopovirilia* e *T. pretiosum*) e tratamentos (tipos de posturas) ($F = 1,5$; $P = 0,23$), porém houve, diferença significativa entre as espécies ($F = 8,39$; $P = 0,004$) e entre os tratamentos ($F = 7,45$; $P = 0,0009$). Em geral, *T. atopovirilia* permaneceu maior período de tempo parasitando sobre a postura do que *T. pretiosum* embora, quanto ao número de ovos parasitados só houve diferença, significativa, entre as espécies, com relação às posturas com uma camada e sem escamas e com aquela com alta densidade de escamas (Tabela 15). Esses resultados mostram que o tipo de

Figura 16. Correlação entre o tempo de permanência da fêmea sobre a postura de *Spodoptera frugiperda* e o número de ovos parasitados. Tempo de observação de 20 min. (A) *Trichogramma atopovirilia*. (B) *Trichogramma pretiosum*

postura terá efeito sobre o tempo em que a fêmea permanecerá parasitando sobre a mesma, interferindo, portanto, na sua capacidade de parasitismo.

Em posturas com alta densidade de escamas, fêmeas de *T. pretiosum* encontraram maior dificuldade em parasitar. Do total de fêmeas observadas desta espécie, apenas 60% conseguiram parasitar, sendo que 100% das fêmeas de *T. atopovirilia* parasitaram. A dificuldade imposta pela barreira de escamas, em muitos casos, impedia que as fêmeas examinassem e parasitassem de imediato o primeiro ovo encontrado, levando muitas vezes a fêmea a se deslocar da postura e a não parasitar, ou quando parasitava, tal parasitismo ocorria nos poucos ovos acessíveis à fêmea localizados na margem da postura, o que contribuiu para diminuir o tempo em que a fêmea permaneceu parasitando. Logo, pode-se inferir, que em condições de campo, uma experiência de parasitismo mal sucedida, sobre posturas com alta densidade de escamas, onde o inseto não consegue parasitar de imediato, levará a fêmea a se deslocar em busca de novas posturas, o que, diminuirá a sua capacidade de parasitismo. Observações semelhantes foram feitas por Garnier-Geoffroy et al. (1996), para *T. brassicae*, as quais deixaram a área onde estavam as posturas de *O. nubilalis*, após não conseguirem contactá-las ou parasitá-las de imediato e por Berti & Marcano (1991) que verificaram que o maior tempo de ausência de ovos hospedeiro, aumentou a reabsorção de ovos por *T. pretiosum* e diminuiu o parasitismo em ovos de *S. cerealella*. Estas discussões mostram a necessidade da fêmea encontrar e parasitar o ovo do hospedeiro em um determinado período de tempo para ser eficiente no controle de uma determinada praga.

O tempo que a fêmea levou para se deslocar após o término do parasitismo de um ovo e o início da próxima avaliação externa, aumentou com a presença de escamas nas posturas. Nessas posturas, observou-se, ainda, um menor número de ovos parasitados por *Trichogramma* spp. Esse menor

parasitismo pode ser atribuído, à dificuldade da fêmea em examinar e ovipositar sobre o ovo hospedeiro, e ao tempo gasto pelo inseto no deslocamento sobre a postura, como mostra a análise de correlação, em que há uma relação inversa entre o aumento no intervalo de tempo percorrido entre ovos parasitados e o número de ovos parasitados por *T. atopovirilia* ($t=8,5$; $P=0,00001$; $r=-0,70$) e *T. pretiosum* ($t=9,9$; $P=0,00001$; $r=-0,75$) (Figura 17).

Parasitóides como *Trichogramma*, apresentam um modelo de comportamento que envolve desde a localização do hospedeiro até o seu reconhecimento, aceitação, e susceptibilidade que o leva ao parasitismo (Vinson 1997, 1998). A eficiência com que cada passo deste modelo é executado irá indicar o grau de sucesso do parasitismo (van Hezewijk et al., 2000). No presente estudo, constatou-se que a distribuição dos ovos em camadas e a presença de escamas alteram o comportamento de oviposição e afetam a eficiência de parasitismo de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*. Esses resultados embora não possam ser utilizados como medida da eficiência dos parasitóides em campo, dão uma indicação de como eles irão se comportar em um programa de liberação visando ao controle de *S. frugiperda*. Deve-se ressaltar, que em condições de campo, fatores outros, como, as interações com outros componentes bióticos (interações intra e interespecíficas) (Bleicher & Parra, 1989; Smith, 1994) e condições climáticas (Bourchier & Smith, 1996), poderão interferir na performance do parasitóide.

Figura 17. Correlação entre o intervalo de tempo percorrido entre ovos parasitados e o número de ovos parasitados em posturas de *Spodoptera frugiperda*. Tempo de observação de 20 min. (A) *Trichogramma atopovirilia*. (B) *Trichogramma pretiosum*.

4.5. Capacidade de parasitismo de *T. atopovirilia* em telado

Houve diferenças significativas, quanto à porcentagem de parasitismo entre os três tipos de posturas estudados, sendo maior o parasitismo em posturas com uma camada de ovos; não houve, contudo, diferenças significativas entre aquelas com duas e três camadas (Tabela 16). A maior porcentagem de parasitismo em posturas com uma camada, se deve ao acesso das fêmeas a todos os ovos da postura e, portanto, à facilidade em examiná-los e parasitá-los, o que não foi possível em posturas com duas e três camadas, onde o parasitismo se deu apenas nos ovos externos, não sobrepostos pelas camadas superiores. O número de ovos parasitados não diferiu entre os três tratamentos, o que é justificável pois embora houvesse maior número de ovos em posturas com duas e três camadas (em média 144,5 e 206,3, respectivamente) em relação àquelas com uma camada de ovos (média de 89,53), o inseto não conseguiu parasitar os ovos encobertos. Esses resultados confirmam, as observações dos estudos anteriores (itens 4.1.2, 4.3.2 e 4.4.2), e mostram que *T. atopovirilia* (provavelmente, o mesmo acontecendo com outras espécies) não é capaz de parasitar os ovos sobrepostos em camadas, o que diminui a eficiência dessa espécie no controle de *S. frugiperda*.

Considerando-se a dificuldade de *T. atopovirilia* em parasitar posturas de *S. frugiperda*, os valores obtidos foram altos, se comparados àqueles observados em condições de campo por Greenberg et al. (1998b) para *T. pretiosum* e *T. maidis* em posturas de *S. exigua*, que foram de 36,8% e 34,5%, respectivamente, e por Toonders & Sánchez (1987) que após liberar *Trichogramma* sp. em campo para o controle de *S. frugiperda*, constataram um parasitismo da ordem de 4%, o que foi justificado, pelo grande número de indivíduos braquípteros o que diminuiu a capacidade de dispersão do parasitóide; neste caso, também houve predação por formigas além de chuvas, que, conjuntamente, afetaram o parasitismo por

Trichogramma sp. Deve-se ressaltar, no entanto, que na presente pesquisa, em telado, foi eliminada a ação de competidores e outros fatores externos, que podem ter favorecido a performance do parasitóide.

Por outro lado, observando-se os dados referentes às posturas com duas e três camadas, vê-se que a diferença entre o número de ovos estimado e o número real de ovos na postura, levou a um número de *T. atopovirilia* liberado por ovo de *S. frugiperda* superior a 1,6 indivíduos (Tabela 16), fato que, provavelmente, contribuiu para que houvesse uma maior pressão de parasitismo e aumento na porcentagem de ovos parasitados em posturas com duas e três camadas. Portanto, na presente pesquisa, os resultados de parasitismo estão superestimados para estas posturas de *S. frugiperda* com duas e três camadas. Estes resultados apontam, ainda, para a necessidade de estudos que determinem a quantidade ideal de *T. atopovirilia* a ser liberado por ovo visando ao controle biológico de *S. frugiperda*.

Tabela 16. Capacidade de parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* sobre posturas de *Spodoptera frugiperda* com diferentes características físicas, em telado.

Postura	N	Número estimado de ovos ¹	Número real de ovos ²	Número de <i>T. atopovirilia</i> liberado ³	Capacidade de parasitismo	
					Nº de ovos parasitados ^{4,5}	Parasitismo (%) ^{6,7}
Uma camada	12	447,66	447,66	716,26	285,58 ± 45,92a	66,24 ± 8,56a
Duas camadas	12	867,33	660,17	1387,67	285,17 ± 38,29a	45,20 ± 6,20 b
Três camadas	12	1232,42	1008,42	1977,25	384,42 ± 44,33a	40,10 ± 3,46 b

1. número de ovos médio estimado segundo metodologia de Leuck & Perkins (1972) e Nalin (1991).
2. número real de ovos, obtidos com base no número de lagartas eclodidas e ovos parasitados
3. numero médio de *T. atopovirilia* liberado com base no número de ovos estimados por postura. (liberados 1,6 *Trichogramma*/ ovo de *S. frugiperda*.
4,6. dados transformados em $\sqrt{x}$.
5,7. médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste “F” e de Tukey (p<0,05), respectivamente.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Spodoptera frugiperda (J. E. Smith, 1797) colocou ovos durante todo o desenvolvimento vegetativo do milho, desde o estágio fenológico de 4-6 folhas até 12-14 folhas, quando ocorre o pendoamento. Durante esse período, a mariposa foi capaz de selecionar partes da planta e modificar tal preferência, de acordo com o estágio fenológico da cultura, mostrando um padrão de comportamento, que parece estar direcionado para a proteção e alimentação da sua prole.

A quantidade de posturas foi influenciada pelo estágio fenológico do milho, e o maior número se concentrou nos estágios iniciais de desenvolvimento até aproximadamente 60 dias do plantio, coincidindo com a época de maior ataque e dano da praga à cultura (Carvalho, 1970).

Não houve um padrão característico de posturas dentro de cada estágio fenológico do milho compreendido entre 4-6 até 12-14 folhas, sendo que em todos os estágios, foram encontradas posturas com diferentes números de camadas e coberturas de escamas, com predominância daquelas com 3 camadas de ovos e presença de escamas. No entanto, nos estágios finais de desenvolvimento, as posturas foram maiores, com maior número de camadas e, conseqüentemente, de ovos em relação aos estágios iniciais de desenvolvimento do milho.

O parasitismo natural de ovos de *S. frugiperda* por *Trichogramma* spp. ocorreu em todos os estágios fenológicos do milho, sem haver variação entre os estágios compreendidos entre 4-6 folhas até 12-14 folhas, mas com predominância de parasitismo nas regiões inferior e média da planta. De modo geral, o parasitismo natural foi baixo, e poucas espécies de *Trichogramma* foram encontradas parasitando ovos dessa praga, fato, que parece estar associado ao tipo de postura de *S. frugiperda*, que na sua maioria, se apresentou com mais de uma camada de ovos e coberta por escamas, dificultando o parasitismo por estas espécies de parasitóides.

Trichogramma pretiosum Riley, 1879 foi a espécie predominante parasitando ovos de *S. frugiperda*. *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983, apareceu em menor frequência, sendo ambas espécies candidatas potenciais ao controle da praga.

Ovos de *S. frugiperda* se mostraram adequados ao desenvolvimento de *T. pretiosum*. Porém, linhagens dessa espécie, provenientes de uma mesma localidade e hospedeiro, se comportaram de forma diferente quanto à sua capacidade de parasitar e de se desenvolver em ovos dessa praga, sendo que algumas delas não alteraram o seu comportamento quando criadas no hospedeiro alternativo *Anagasta kuehniella* e continuaram a preferir o hospedeiro natural, como no caso das linhagens Lsg₁₁ e Lsg₁₈, o que sugere a possibilidade de utilização dessas linhagens para o controle de *S. frugiperda*.

As diferenças apresentadas pelas linhagens de *T. pretiosum*, mostraram que a adoção de critérios para a seleção de linhagens é de fundamental importância para programas de controle biológico, já que as linhagens de *Trichogramma*, independente de sua origem, diferiram na sua capacidade de parasitar e de se desenvolver no ovo da praga.

T. atopovirilia e *T. pretiosum* não diferiram quanto ao desenvolvimento em ovos de *S. frugiperda*, e se mostraram adaptados a esta praga, já que

apresentaram parâmetros semelhantes aos apresentados por estas espécies quando criadas em outros hospedeiros, incluindo duração do ciclo de vida, viabilidade, número de adultos por ovo e razão sexual; tais resultados são coincidentes aos obtidos no estudo de seleção de linhagens, em que ovos de *S. frugiperda* foram adequados ao desenvolvimento desses parasitóides.

Embora *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* não tenham diferido quanto à capacidade de se desenvolver em ovos de *S. frugiperda*, *T. atopovirilia* foi mais agressiva e de maior especificidade a ovos da praga em relação a *T. pretiosum*, já que apresentou maior capacidade de parasitismo em posturas com diferentes barreiras físicas e maior aceitação pelo hospedeiro natural em relação a *A. kuehniella*.

Fêmeas de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* não diferiram no tamanho quando criadas em ovos de *A. kuehniella*, confirmando que a maior capacidade de parasitismo de *T. atopovirilia*, em posturas de *S. frugiperda*, está associada a sua maior agressividade e especificidade a ovos da praga. Desta forma, é sugerida a maior eficiência da espécie *T. atopovirilia* para o controle de *S. frugiperda*.

Fêmeas de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* apresentaram maiores comprimentos da tíbia posterior e do ovipositor quando criadas em ovos de *S. frugiperda*, pelo fato dos ovos do hospedeiro natural serem maiores, portanto, com maior quantidade de recursos nutricionais, em relação a ovos de *A. kuehniella*.

A criação de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* por várias gerações em ovos de *A. kuehniella*, não alterou o comportamento dessas espécies e elas mantiveram a preferência e aceitação por ovos de *S. frugiperda*. Assim, ambas as espécies mostraram-se agressivas e com potencial para o controle dessa praga; porém, devido à maior capacidade de parasitismo e especificidade de *T. atopovirilia* aos ovos da praga, deve-se dar preferência à utilização desta espécie para o controle de *S. frugiperda*.

T. atopovirilia e *T. pretiosum* reconhecem e parasitam mais rapidamente o ovo hospedeiro após ter uma primeira experiência de oviposição; são capazes, ainda, de reconhecer e rejeitar o ovo parasitado, com base na avaliação interna do hospedeiro, sendo estas, indicações de aprendizado associativo por estes microhimenópteros.

T. atopovirilia e *T. pretiosum* apresentaram diferenças quanto ao padrão de comportamento e, em geral, *T. atopovirilia* “gasta” mais tempo para examinar e parasitar o ovo de *S. frugiperda* em relação a *T. pretiosum*, o que é justificável pelo fato de que cada espécie tem seu padrão inato de comportamento.

A presença de escamas sobre a postura de *S. frugiperda* dificulta o deslocamento do parasitóide sobre as posturas e o acesso aos ovos, e com isto aumenta o tempo necessário para que o inseto reconheça e parasite o ovo do hospedeiro, afetando, dessa forma, o comportamento e a eficiência de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*.

Apesar da distribuição dos ovos de *S. frugiperda* em camadas não impedir o parasitismo por *Trichogramma* spp., os resultados da capacidade de parasitismo de *T. atopovirilia* em telado mostraram, que o parasitismo é menor nas posturas com mais de uma camada de ovos. Porém, segundo os resultados de laboratório, é a presença de escamas sobre as posturas de *S. frugiperda*, o principal fator afetando o parasitismo por *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*, já que evita o contato desses parasitóides com a maioria dos ovos da praga. Deve-se ressaltar, que em campo, as posturas de *S. frugiperda* não apresentam um padrão característico, ocorrendo várias combinações de posturas com diferentes números de camadas e presença ou ausência de escamas, o que exige cautela na utilização de *Trichogramma* spp. para o controle de *S. frugiperda*, já que estas barreiras físicas são obstáculos ao parasitismo e, que, portanto, podem diminuir a eficiência de *Trichogramma* spp. no controle da praga.

6. CONCLUSÕES

- *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) coloca ovos durante todo o desenvolvimento vegetativo do milho;
- O local de postura de *S. frugiperda* na planta é variável com a fenologia do milho;
- O número de posturas de *S. frugiperda* é influenciado pelo estágio fenológico do milho, sendo maior no início do desenvolvimento vegetativo;
- Não há um padrão de postura para cada estágio fenológico do milho, com relação ao tamanho, número de camadas e presença de escamas;
- O estágio fenológico do milho não afeta a distribuição e o parasitismo natural por *Trichogramma* spp.;
- O parasitismo natural de ovos de *S. frugiperda* por *Trichogramma* spp. se concentra nas regiões inferior e média da planta;
- O parasitismo natural em ovos de *S. frugiperda* por *Trichogramma* spp. é baixo durante todo o desenvolvimento vegetativo do milho;

- Poucas espécies são encontradas parasitando ovos de *S. frugiperda*, sendo que *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 é a mais freqüente, representando 93,79% das espécies coletadas, seguida de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 com 2,07%;
- Há diferenças biológicas entre as linhagens de *T. pretiosum* criadas em ovos de *S. frugiperda*;
- A criação das linhagens de *T. pretiosum* por várias gerações em ovos de *Anagasta kuehniella* não diminui a agressividade e preferência ao hospedeiro natural de algumas linhagens;
- *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* não diferem em suas características biológicas quando criadas em ovos de *S. frugiperda*;
- *T. atopovirilia* tem maior capacidade de parasitismo em posturas de *S. frugiperda* do que *T. pretiosum*;
- Fêmeas de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* são de mesmo tamanho quando criadas em ovos de *A. kuehniella*.
- Fêmeas de *T. pretiosum* são maiores do que as de *T. atopovirilia* quando criadas em ovos de *S. frugiperda*;
- Fêmeas de *T. atopovirilia* e de *T. pretiosum* criadas em ovos de *S. frugiperda* são maiores do que aquelas criadas em ovos de *A. kuehniella*;

- A capacidade de parasitismo de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* é diminuída com a presença de escamas sobre a postura de *S. frugiperda*;
- *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* mantêm a preferência e agressividade a ovos de *S. frugiperda* quando criadas por várias gerações em ovos de *A. kuehniella*;
- *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* reconhecem e parasitam mais rapidamente o ovo hospedeiro após uma primeira experiência de oviposição, o que indica a presença de aprendizado associativo nessas espécies;
- *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* apresentam diferenças quanto aos seus padrões de comportamento, sendo que *T. pretiosum* necessita de menos tempo para reconhecer e parasitar o ovo hospedeiro;
- A presença de escamas sobre as posturas de *S. frugiperda* aumenta o tempo gasto em cada etapa de comportamento de oviposição, diminui o tempo de permanência sobre a postura e o número de ovos parasitados por *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*;
- A presença de escamas sobre a postura de *S. frugiperda* é o principal fator que contribui para diminuir o potencial de utilização de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* para o controle dessa praga, já que altera o seu comportamento e diminui a sua capacidade de parasitismo;
- A distribuição dos ovos em camadas impede o parasitismo dos ovos das camadas inferiores por *T. atopovirilia*, contribuindo para diminuir a eficiência desse parasitóide.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALI, A.; LUTTRELL, R. G.; PITRE, H. N. Feeding sites and distribution of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae on cotton. **Environmental Entomology**, v. 19, n.4, p. 1060-1067, 1990.
- ALI, A.; LUTTRELL, R. G.; PITRE, H. N.; DAVIS F. M. Distribution of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) egg masses on cotton. **Environmental Entomology**, v. 18, n. 5, p. 881-885, 1989.
- ALVAREZ, L. R.; ROA, F. G. Comportamiento parasítico de *Telenomus* sp. em *Spodoptera frugiperda*. **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 21, n. 4, p. 191-196, 1995.
- ARMAS, J. L.; AYALA, J. L. Parasitic behavior, biology, reproduction, and field utilization of *Telenomus* sp. a native parasitoid of *Spodoptera frugiperda* in Cuba. **Trichogramma News**, n. 7, p. 24, 1993.
- ASHLEY, T. R. Classification and distribution of fall armyworm parasites. **Florida Entomologist**, v. 62, p. 114-123, 1979.

- BAI, B.; LUCK, R. F.; FORSTER, L.; STEPHENS, B.; JANSSEN, J. A. M. The effect of host size on quality attributes of the egg parasitoid, *Trichogramma pretiosum*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 64, p. 37-48, 1992.
- BARFIELD, C. S.; SMITH, Jr. J. W.; CARLYSLE, C.; MITCHELL, E. R. Impact of peanut phenology on select population parameters of fall armyworm. **Environmental Entomology**, v. 9, n. 4, p. 381-384, 1980.
- BASSO, C.; GRILLE, G.; POMPANON, F.; ALLEMAND, R.; PINTUREAU, B. Comparación de los caracteres biológicos y etológicos de *Trichogramma pretiosum* y de *T. exiguum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Revista Chilena de Entomología**, v. 25, p. 45-53, 1998.
- BERTELS, A. Estudos da influência da umidade sobre a dinâmica de populações de lepidópteros, pragas do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 5, p. 67-79, 1970.
- BERTI, J.; MARCANO, R. Efecto del tiempo de ausencia del hospedero sobre el parasitismo por *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Boletín de Entomología Venezolana**, v. 6, n. 1, p. 5-10, 1991.
- BLANCHÉ, S.; CASAS, J.; BIGLER, F.; JANSSEN-VAN BERGEIJK, K. E. An individual-based model of *Trichogramma* foraging behavior: parameter estimation for single females. **Journal of Applied Ecology**, v. 33, p. 425-434, 1996.

- BLEICHER, E.; PARRA, J. R. P. Espécies de *Trichogramma* parasitóides de *Alabama argillacea* I. Biologia de três populações. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 24, n. 8, p. 929-940, 1989.
- BOTELHO, P. S. M.; PARRA, J. R. P.; MAGRINI, E. A.; HADDAD, M. L.; RESENDE, L. C. L. Parasitismo de ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lep.; Pyralidae) por *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hym.; Trichogrammatidae) em duas variedades de cana-de-açúcar conduzidas em dois espaçamentos de plantio. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 39, n. 3, p. 591-595, 1995.
- BOURCHIER, R. S.; SMITH, S. M. Influence of environmental conditions and parasitoid quality on field performance of *Trichogramma minutum*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 80, p. 461-468, 1996.
- CAÑETE, C. L.; FOERSTER, L. A. Egg parasitoids of *Helicoverpa zea* in southern Paraná, Brazil and rearing of *Trichogramma atopovirilia* on an alternative host. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF ENTOMOLOGY, 21. Foz do Iguassu, 2000. **Resumos**. Foz do Iguassu: SEB, 2000. p. 378.
- CARNEVALLI, P. C.; FLORCOVSKI, J. L. Efeito de diferentes fontes de nitrogênio em milho (*Zea mays* L.) sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797). **Ecossistema**, v. 20, p. 41-49, 1995.

- CARVALHO, R. P. L. Danos, flutuação da população, controle e comportamento de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) e susceptibilidade de diferentes genótipos de milho em condições de campo. Piracicaba, 1970. 170p. Tese (Doutorado)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- CAVE, R. D.; ACOSTTA, N. Releases of *Telenomus remus* for control of *Spodoptera frugiperda* in maize and sorghum. **Trichogramma News**, n. 6. p. 24, 1992.
- CÔNSOLI, L. F. Criação in vitro de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 e *T. pretiosum* Riley, 1879 (Hym.: Trichogrammatidae): desenvolvimento de um ovo artificial e aprimoramento de dietas artificiais. Piracicaba, 1997. 153p. Tese (Doutorado)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- CÔNSOLI, L. F.; PARRA, J. R. P. Biology of *Trichogramma galloi* and *T. pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared in vitro and in vivo. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 89, n. 6, p. 828-834, 1996.
- CÔNSOLI, L. F.; KITAJIMA, E. W.; PARRA, J. R. P. Ultrastructure of the natural and factitious host eggs of *Trichogramma galloi* Zucchi and *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), **International Journal of Insect Morphology and Embryology**, v. 28, p. 211-229, 1999.
- CORBET, S. A. Insect chemosensory responses: a chemical legacy hypothesis. **Ecological Entomology**, v. 10, p. 143-153, 1985.

- CORTEZ, H. M.; TRUJILLO, J. A. Incidencia del gusano cogollero y sus enemigos naturales en tres agrosistemas de maiz. *Turrialba*, v. 44, n. 1, p. 1-9, 1994.
- CRUZ, I. Metodologia e resultados de pesquisas com tratamento de sementes envolvendo pragas iniciais da cultura do milho. In: REUNIÃO SOBRE PRAGAS SUBTERRÂNEAS DOS PAÍSES DO CONE SUL, 2., Sete Lagoas, 1992. *Anais*. Sete Lagoas: EMBRAPA, CNPMS, 1992. p. 145-156.
- CRUZ, I. Manejo integrado de pragas de milho com ênfase ao controle biológico. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE DE PRAGAS DA REGIÃO DO PARANAPANEMA, 1., Assis, 1994. *Anais*. Assis: Instituto Biológico; CATI, 1994. p. 26-40.
- CRUZ, I. Manejo integrado de pragas do milho com ênfase para o controle biológico. In: CICLO DE PALESTRAS SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE PRAGAS, Campinas, 1995. *Anais*. Campinas: SEB; Instituto Biológico, 1995. p. 48-92.
- CRUZ, I. Controle Biológico : amigos ocultos. *Globo Rural*, ano 13, n. 155, p. 7, set. 1998.
- CRUZ, I.; TURPIN, F. T. Efeito da *Spodoptera frugiperda* em diferentes estágios de crescimento da cultura do milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 17, n. 3, p. 335-359, 1982.

- CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M. de. L. C.; MATOSO, M. J. **Controle biológico de *Spodoptera frugiperda* utilizando o parasitóide de ovos *Trichogramma***. Sete Lagoas: EMBRAPA, CNPMS, 1999. 40p. (Circular Técnica, 30).
- DE-CHENG, D.; HONG-QUI, Q.; JIA-WEI, D. Host recognition and host acceptance behaviour of *Tetrastichus schoenobii*. **Les Colloques de l'INRA**, n. 43, p. 173-180, 1988.
- FERRER, F. The use of *Telenomus remus* Nixon on commercial corn fields in Venezuela. **Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt**. p. 125-130, 1998.
- GARCÍA, R. F.; ROJAS, A. L. **Control biológico del cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith)**. Programa MIP- C. I. Palmira: Corpoica; 1995. p. 1-2. (Boletim Informativo).
- GARCÍA, R. F.; ROJAS, A. L.; MOSQUERA, A. T. Eggs parasitoids of *Spodoptera frugiperda*. **Egg Parasitoid News**, n. 10, p. 14-15, 1998.
- GARCÍA, J. L. A.; SIFONTES, J. L. A. **Parasitos de huevos de la palomilla del maíz, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)**. Las Villas, Universidade Central de Las Villas, p. 99-90, 1987.
- GARNIER-GEOFFROY, F.; ROBERT, P.; HAWLITZKY, N.; FREROT, B. Oviposition behavior in *Ostrinia nubilalis* (Lep.: Pyralidae) and consequences on host locations and oviposition in *Trichogramma brassicae* (Hym.: Trichogrammatidae). **Entomophaga**, v. 41, n. 2, p. 287-299, 1996.

GASSEN, D. **Manejo de pragas associadas à cultura do milho**. Passo Fundo: Aldeia Norte, 1996. 127 p.

GLADSTONE, S. H. Parasitos del cogollero, *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) en maiz sembrado en la epoca seca en Nicaragua. **CEIBA**, v. 32, n. 2, p. 201-206, 1991.

GOMES, S. M. Comparação de três hospedeiros alternativos para criação e produção massal de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 e *T. galloi* Zucchi, 1988. Piracicaba, 1997. 106p. Tese (mestrado)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

GOMES, S. M.; PARRA, J. R. P. The parasitism as a tool for factitious host selection for *Trichogramma galloi* Zucchi and *T. pretiosum* Riley. **Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt**. p. 13-23, 1998.

GREENBERG, S. M.; NORDLUND, D. A.; WU, Z. Influence of rearing host on adult size and oviposition behavior of mass produced female *Trichogramma minutum* Riley and *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Biological Control**, v. 11, p. 43-48, 1998a.

GREENBERG, S. M.; SUMMY, K. R.; RAULSTON, J. R.; NORDLUND, D. A. Parasitism of beet armyworm by *T. pretiosum* and *T. minutum* under laboratory and field conditions. **Southwestern Entomologist**, v. 23, n. 2, p. 183-188, 1998b.

GROSS, H. R. Effect of temperature, relative humidity, and free water on the number and normalcy of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) emerging from eggs of *Heliothis zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae). **Environmental Entomology**, v. 17, n. 3, p. 470-475, 1998.

GUTIÉRREZ-MARTINEZ, A.; CÁZARES, C. L.; LARA, de. G. Z.; ROSAS, R. A. Fluctuacion poblacional de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Centro de Entomologia y Acarologia**, p. 167-174, 1989.

HARRISON, F. P. Observations on the infestation of corn by fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) with reference to plant maturity. **Florida Entomologist**, v. 67, n. 3, p. 333-335, 1984.

HARRISON, W. W.; KING, E. G.; OUZTS, J. D. Development of *Trichogramma exiguum* and *T. pretiosum* at five temperature regimes. **Environmental Entomology**, v. 14, p. 118-121, 1985.

HASSAN, S. A. Selection of suitable *Trichogramma* strains to control the codling moth *Cydia pomonella* and the two summer fruit tortrix moths *Adoxophyes orana*, *Pandemis heparana* (Lep.: Tortricidae). **Entomophaga**, v. 34, n. 1, p. 19-27, 1989.

HASSAN, S. A. Strategies to select *Trichogramma* species for use in biological control. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S. A. (Ed) **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: CAB International, 1994. p. 55-72.

- HASSAN, S. A. Seleção de espécies de *Trichogramma* para o uso em programas de controle biológico. In: PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Ed) *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. Piracicaba: FEALQ, 1997. cap 7. p. 183-206.
- HASSAN, S. A.; GUO, M. F. Selection of effective strains of egg parasites of the genus *Trichogramma* (Hym., Trichogrammatidae) to control the european corn borer *Ostrinia nubilalis* Hb. (Lep., Pyralidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 111, p. 335-341, 1991.
- HERNADEZ, D.; FERRER, F.; LINARES, B. Introducion de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) para controlar *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) em Yaritagua - Venezuela. **Agronomia Tropical**, v. 39, n. 4-6, p. 199-205, 1989.
- HINTZ, J. L.; ANDOW, D. A. Host age and host selection by *Trichogramma nubilale*. **Entomophaga**, v. 35, n. 1, p. 141-150, 1990.
- HOFFMANN, M. P.; WALKER, D. L.; SHELTON, A. M. Biology of *Trichogramma ostriniae* (Hym.: Trichogrammatidae) reared on *Ostrinia nubilalis* (Lep.: Pyralidae) and survey for additional hosts. **Entomophaga**, v. 40, n. 3/4, p. 387-402, 1995.
- HOUSEWEART, M. W.; JENNINGS, D. T.; WELTY, C.; SOUTHARD, S. G. Progeny production by *Trichogramma minutum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) utilizing eggs of *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae) and *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Canadian Entomologist**, v. 115, p. 1245-1252, 1983.

- HOY, C. W.; SHELTON, A. M. Feeding response of *Artogeia rapae* (Lepidoptera: Pieridae) and *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae) to cabbage leaf age. **Environmental Entomology**, v. 16, p. 680-682, 1987.
- HUNT, T. N. Monitoring and predicting fall armyworm infestations in North Carolina. **Florida Entomologist**, v. 63, n. 4, p. 361-364, 1980.
- INOUE, M. S. R.; PARRA, J. R. P. Efeito da temperatura no parasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 sobre ovos de *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819). **Scientia Agrícola**, v. 55, n. 2, p. 222-226, 1998.
- KAISER, L.; PHAM-DELEGUE, M. H.; MASSON, C. Behavioural study of plasticity in host preferences of *Trichogramma maidis* (Hym.: Trichogrammatidae). **Physiological Entomology**, v. 14, p. 53-60, 1989.
- KAN-QUEN, L.; FENG-LI, J.; JIAN-JUN, G. Preliminary study on the reproductive behaviour of the parasitic wasp (*Trichogramma*). **Les Colloques de l'INRA**, n. 43, p. 215-219, 1988.
- KASTEN Jr.; PRECETTI, A. A. C. M.; PARRA, J. R. P. Dados biológicos comparativos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) em duas dietas artificiais e substrato natural. **Revista de Agricultura**, v. 53, n. 1/2, p. 68-78, 1978.
- KAZMER, D. J.; LUCK, R. F. Field tests of the size-fitness hypothesis in the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum*. **Ecology**, v. 76, n. 2, p. 412-425, 1995.

LABATTE, J. M. Model for the within-plant vertical distribution of european corn borer (Lep., Pyralidae) larvae. **Journal of Applied Entomology**, v. 111, p. 120-136, 1991.

LABATTE, J. M. Within-plant distribution of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) Larvae on corn during whorl-stage infestation. **Florida Entomologist**, v. 76, n. 3, p. 437-446, 1993.

LEUK, D. B.; PERKINS, W. D. A method of estimating fall army worm progeny reduction when evaluating control achieved host-plant resistance. **Journal of Economic Entomology**, v. 65, p. 482-483, 1972.

LEWIS, W. J.; LOUISE, E. M. V.; TUMLINSON, J. H.; VAN LENTEREN, J. C.; PAPA, D. R. Variations in parasitoid foraging behavior: Essential element of a sound biological control theory. **Environmental Entomology**, v. 19, n. 5, p. 1183-1193, 1990.

LI, Y. L. Worldwide use of *Trichogramma* for biological control on different crops: a survey. In: WAJNBURG, E.; HASSAN, S. A. (Ed) **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: CAB International, 1994. p. 37-54.

LI, S. Y.; HENDERSON, D. E.; MYERS, J. H. Selection of suitable *Trichogramma* species for control of the blackheaded fireworm infesting cranberries. **Biological Control**, v. 4, p. 244-248, 1994.

LOPES, J. R. S. Estudos bioetológicos de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hym., Trichogrammatidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lep., Pyralidae). Piracicaba, 1989. 141p. Tese (Mestrado)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

LOPES, J. R. S.; PARRA, J. R. P. Efeito da idade de ovos do hospedeiro natural e alternativo no desenvolvimento e parasitismo de duas espécies de *Trichogramma*. **Revista de Agricultura**, n. 3, v. 66, p. 221-244, 1991.

MENESES, R.; CORDERO, V.; SANCHEZ, I. Oviposicion de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en dos variedades de arroz. **Cultivos Agroindustriales**, n. 2/3. p.91-93, 1991.

MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V.; PARRA, J. R. P.; GUIMARÃES, J. H.; ALMEIDA, R. P. Aspectos da biologia de *Archytas incertus* (Diptera, Tachinidae) e de suas inter-relações com *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). 1. Metodologia de criação e determinação do ínstar mais adequado para a produção do parasitóide. **Revista Brasileira de Entomologia**, n. 35, v. 3, p. 485-497, 1991a.

MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V.; PARRA, J. R. P.; GUIMARÃES, J. H.; ALMEIDA, R. P. Aspectos da biologia de *Archytas incertus* (Diptera, Tachinidae) e de suas inter-relações com *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). 3. Influência da temperatura na ontogenia do parasitóide. **Revista Brasileira de Entomologia**, n. 35, v. 3, p. 509-516, 1991b.

- MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V.; PARRA, J. R. P.; GUIMARÃES, J. H. Aspectos da biologia de *Archytas incertus* (Diptera, Tachinidae) e de suas inter-relações com *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). 4. Sincronismo. **Revista Brasileira de Entomologia**, n. 35, v. 3, p. 517-520, 1991c.
- MITCHELL, E. R.; WADDIL, V. H.; ASHLEY, T. R. Population dynamics of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) and its larval parasites on whorl stage corn in pheromone-permeated field environments. **Environmental Entomology**, v.13, p. 1618-1623, 1984.
- MONJE, J. C.; ZEBLTZ, C. P. W.; OHNESORGE, B. Host and host age preference of *Trichogramma galloi* and *T. pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared on different hosts. **Journal of Economic Entomology**, v. 97, n. 1, 97-103, 1999.
- NALIN, D. M. Biologia, nutrição quantitativa e controle de qualidade de populações de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidóptera: Noctuidae) em duas dietas artificiais. Piracicaba, 1991. 150p. (Doutorado-Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).
- NAVARRO, R. V. & MARCANO, R. Efecto de la temperatura sobre las características biológicas de *Trichogramma pretiosum* Riley y *T. caiaposi* (Brun, Moraes y Soares). **Agronomia Tropical**, v. 47, n. 3. p. 287-297, 1997.

- NAVARRO, R.; MARCANO, R. Preferencia de *Trichogramma pretiosum* Riley y *T. atopovirilia* Oatman y Platner por huevos de *Helicoverpa zea* (Boddie) de diferentes edades. **Boletín de Entomología Venezolana**, v. 14, n. 2, p. 87-93, 1999.
- NEIL, K. A.; SPECHT, H. B. Field releases of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) for suppression of corn earworm, *Heliothis zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae), egg populations on sweet corn in Nova Scotia. **Canadian Entomologist**, v. 122, p. 1259-1266, 1990.
- NURINDAH; GORDH, G.; CRIBB, B. W. Oviposition behaviour and reproductive performance of *Trichogramma australicum* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared in artificial diet. **Australian Journal of Entomology**, v. 36, p. 87-93, 1997.
- NURINDAH; CRIBB, B. W.; GORDH, G. Experience acquisition by *Trichogramma australicum* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Australian Journal of Entomology**, v. 38, p. 115-119, 1999.
- OLSON, D. M.; ANDOW, D. A. Primary sex allocation in *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and effects of sperm on oviposition behavior. **Annals of Entomological Society of America**, v. 90, n. 5, p. 689-692, 1997.
- OLSON, D. M.; ANDOW, D. A. Larval crowding and adult nutrition effects on longevity and fecundity of female *Trichogramma nubilale* Ertle & Davis (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Environmental Entomology**, v. 27, n. 2, p. 508-514, 1998.

- OMETTO, J. C. **Registros e estimativas dos parâmetros meteorológicos da região de Piracicaba, SP.** Piracicaba: FEALQ, 1991. 76p.
- PAIR, S. D.; RAULSTON, J. R.; SPARKS, A. N.; MARTIN, P. B. Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) parasitoids: differential spring distribution and incidence on corn and sorghum in the southern United States and Northeastern Mexico. **Environmental Entomology**, v. 15, p. 342-348, 1986.
- PAK, G. A.; JONG, E. J. de. Behavioural variations among strains of *Trichogramma* spp.: host recognition. **Netherlands Journal of Zoology**, v. 37, n. 2, p. 137-166, 1987.
- PAK, G. A.; KASKENS, J. W. M.; JONG, E. J. de. Behavioural variation among strains of *Trichogramma* spp.: host-species selection. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 56, p. 91-102, 1990.
- PAK, G. A.; BUIS, H. C. E. M.; HECK, I. C. C.; HERMANS, M. L. G. Behavioural variations among strains of *Trichogramma* spp.: host-age selection. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 40, p. 247-258, 1986.
- PANSERA-DE-ARAÚJO, M. C. G.; CRUZ, I. B. M. da; CAVALHEIRO, M.; OLIVEIRA, A. K. de. Placement of noctuidae eggs (Lepidoptera) on soybean plants. **Annals of Entomological Society of America**, v. 92, n. 5, p. 702-706, 1999.

- PARRA, J. R. P. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. In: PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Ed) *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. Piracicaba: FEALQ, 1997. cap 4. p. 121-150.
- PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; LOPES, J. R. S. Pragas do milho e seu controle. In: OSUNA, J. A.; MORO, J. R. (Ed). *Produção e melhoramento do milho*. Jaboticabal: FUNEP, 1995. p. 81-87.
- PARRA, J. R. P.; LOPES, J. R. S.; BIRAL, E.; GOUVEIA, P. C. R. Número ideal de ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) por caixa de criação para pesquisas com *Trichogramma* spp. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v. 18, n. 2, p. 391-402, 1989.
- PASHLEY, D. P.; HARDY, T. N.; HAMMOND, A. M. Host effects on developmental and reproductive traits in fall armyworm strains (Lepidoptera: Noctuidae). *Annals of the Entomological Society of America*, v. 88, n. 6, p. 748-755, 1995.
- PATEL, P. N.; HABIB, M. E. M. Levantamento e eficiência de insetos parasitos de *Spodoptera frugiperda* (Abbot e Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista de Agricultura*, v. 61, n. 1, p. 93-100, 1986.
- PAVLIK, J. Variability in the host acceptance of european corn borer, *Ostrinia nubilalis* Hbn. (Lep., Pyralidae) in strains of the egg parasitoid *Trichogramma* spp. (Hym., Trichogrammatidae). *Journal of Applied Entomology*, v. 115, p. 77-84, 1993.

- PEDIGO, L. P. **Entomology and pest management**. New York: MacMillan, 1989. 646p.
- PENCOE, N. L.; MARTIN, P. B. Development and reproduction of fall armyworm on several wild grasses. **Environmental Entomology**, v. 10, p. 999-1002, 1981.
- PITRE, H. N.; MULROONEY, J. E.; HOGG, D. B. Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) oviposition: Crop preferences and egg distribution on plants. **Journal of Economic Entomology**, v. 76, p. 463-466, 1983.
- PREZOTTI, L.; HAJI, F. N. P.; HONDA, O. T. Avaliação de *Trichogramma atopovirilia* como agente de controle biológico de *Spodoptera frugiperda*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 16., Salvador, 1997. **Resumos**. Salvador: SEB, 1997. p. 117.
- RESENDE, D. L. M. C.; CIOCIOLLA, A. I. Capacidade de parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes temperaturas. **Ciência e Agrotécnica**, v. 20, n. 4, p. 421-424, 1996.
- ROMEIS, J.; SHANOWER, T. G.; ZEBITZ, C. P. W. Physical and chemical plant characters inhibiting the searching behaviour of *Trichogramma chilonis*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 87, p. 275- 284, 1998.

- ROMEIS, J.; SHANOWER, T. G.; ZEBITZ, C. P. W. *Trichogramma* egg parasitism of *Helicoverpa armigera* on pigeonpea and sorghm in southern India. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 90, p. 69-81, 1999.
- RUEDA, O. C. P.; VICTORIA, C. A. C. Evaluation de la efetividad de *Trichogramma atopovirilia* Oatman y Platner sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) en maiz, en condiciones del Valle del Cauca. Palmira, 1993. 64p. Tese (Graduação)- Universidade Nacional da Colombia.
- SÁ, L. A. N. Bioecologia de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879, visando avaliar o seu potencial para o controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) e *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) em milho. Piracicaba, 1991. 107p. Tese (Doutorado)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- SÁ, L. A. N.; PARRA, J. R. P. Biology and parasitism of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym., Trichogrammatidae) on *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lep., Pyralidae) and *Heliothis zea* (Boddie) (Lep., Noctuidae) eggs. **Journal of Applied Entomology**, v. 118, p. 38-43, 1994.
- SCHMIDT, J. M. Host recognition and acceptance by *Trichogramma*. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S. A. (Ed) **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: CAB International, 1994. p. 165-200.
- SCHMIDT, J. M.; SMITH, J. J. B. Host volume measurement by *Trichogramma*: mechanism and application to biological control. **Les Colloques de l'INRA**, n. 43, p. 239-248, 1988.

- SCHMIDT, J. M.; SMITH, J. J. B. The mechanism by which the parasitoid wasp *Trichogramma minutum* responds to host clusters. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 39, p. 287-294, 1985.
- SHELTON, A. M.; NYROP, J. P.; SEAMAN, A.; FOSTER, R. E. Distribution of european corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) egg masses and larvae on sweet corn in New York. **Environmental Entomology**, v. 15, p. 501-506, 1986.
- SHU-SHENG, L.; HE, J. H. Observation on the oviposition behaviour of *Trichogramma dendrolimi* Matsumura. **Les Colloques de l'INRA**, n. 56, p. 23-27, 1990.
- SIFONTES, J. L. A.; OBREGON, J. R.; CUELLAR, S. R.; GARCÍA, J. L. A. Hábitos oviposicionales de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en plantas de arroz. **Revista Centro Agrícola**, v. 15, n. 2, p. 11-15, 1988.
- SILVA, F. M. A.; FOWLER, H. G.; LEMOS, R. N. S. Parasitismo em lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Smith), na região do Triângulo Mineiro, MG. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 26, n. 2, p. 235-242, 1997.
- SILVEIRA, da.; J. C. F.; SASAKI, E. T.; FORNER, M. A.; HONDA, M. S.; CALAFIORI, M. H. Ocorrência de parasitóides de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) em cultura do milho, em Espírito Santo do Pinhal- SP. **Ecossistema**, v. 12, p. 41-44, 1987.

- SMITH, S. M. Methods and timing of releases of *Trichogramma* to control lepidopterous pest. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S. A. (Ed) **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: CAB International, 1994. p. 113-144.
- SMITH, S. M.; STROM, K. B. Oviposition by the forest tent caterpillar (Lepidoptera: Lasiocampidae) and acceptability of its eggs to *Trichogramma minutum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Environmental Entomology**, v. 22, n. 6, p. 1375-1382, 1993.
- SUZUKI, Y; TSUJI, H.; SASAKAWA, M. Sex allocation and effects of superparasitism on secondary sex ratios in the gregarious parasitoid, *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Animal Behavior**, v. 32, p. 478-484, 1984.
- THOMSON, M. S.; STINNER, R. E. The scale response of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae): variation among species in host specificity and the effect of conditioning. **Entomophaga**, v. 35, n. 1, p. 7-21, 1990.
- TIRONI, P.; CIOCIOLA, A. I. Parasitismo natural de ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) por 2 espécies de *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em culturas de milho em Lavras, MG. **Ciência e Prática**, v. 18, n. 1, p. 61-67, 1994.

- TOONDERS, T. J.; SÁNCHEZ, J. L. C. Evaluacion de la efectividad de *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) en el combate de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) recomendaciones para su uso. **Centro de Entomologia y Acarologia**, p. 75-84, 1987.
- VAN HEZEWIJK, B. H.; BOURCHIER, R. S.; SMITH, S. M. Searching speed of *Trichogramma minutum* and its potential as a measure of parasitoid quality. **Biological Control**, v. 17, p. 139-146, 2000.
- VINSON, S. B. Comportamento de seleção hospedeira de parasitóides de ovos, com ênfase na família Trichogrammatidae. In: PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Ed) *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. Piracicaba: FEALQ, 1997. cap 3. p. 67-120.
- VINSON, S. B. The general host selection behavior of parasitoid Hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. **Biological Control**, v. 11, p. 79-96, 1998.
- WAAGE, J. K.; MING, N. G. S. The reproductive strategy of a parasitic wasp. I. Optimal progeny and sex allocation in *Trichogramma evanescens*. **Journal of Animal Ecology**, v. 53, p. 401-415, 1984.
- WADDILL, VAN H.; WHITCOMB, W. H. Release of *Telenomus remus* (Hym.: Scelionidae) against *Spodoptera frugiperda* (Lep.: Noctuidae) in Florida, U.S.A. **Entomophaga**, v. 27, n. 2, p. 159-162, 1982.
- WAJNBERG, E. Analysis of variations of handling-time in *Trichogramma maidis*. **Entomophaga**, v. 34, n. 3, p. 397-407, 1989.

- WANG, B.; FERRO, D. N.; HOSMER, D. W. Importance of plant size, distribution of egg masses, and weather conditions on egg parasitism of the european corn borer, *Ostrinia nubilalis* by *Trichogramma ostrinae* in sweet corn. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 83, p. 337-345, 1997.
- WÜHRER, B. G.; HASSAN, S. A. Selection of effective species/strains of *Trichogramma* (Hym., Trichogrammatidae) to control the diamondback moth *Plutella xylostella* L. (Lep., Plutellidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 116, p. 80-89, 1993.
- ZUCCHI, R. A.; MONTEIRO, R. C. O gênero *Trichogramma* na América do Sul. In: PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Ed) *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. Piracicaba: FEALQ, 1997. cap 2. p. 41-66.
- ZUCCHI, R. A.; PARRA, J. R. P.; SILVEIRA NETO, S. *Trichogramma* species associated with some lepidopterous pests in Brazil. **Les Colloques l'INRA**, n. 56, p. 131-134, 1991.