BIOECOLOGIA DE *Trichospilus diatraeae* CHERIAN &
MARGABANDHU, 1942 (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE),
ENDOPARASITÓIDE DE PUPAS DE LEPIDOPTERA

MIRIAM ROSA PARON

Bióloga

Orientador: Prof. Dr. EVONEO BERTI FILHO

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

Maio - 1999

ERRATA & CORRIGENDA

<i>p.</i>	<i>item</i>	<i>linha</i>	<i>onde se lê</i>	<i>leia-se</i>
ix		primeira	Esta...	Este...
ix		quarta	...sendo...	(eliminar)
xi		segunda	...read in its natural host...	...reared in the host...
xi		segunda	...imatures and adult bucal pieces and antennae...	...immatures and adult mouth pieces and antennae...
9	3.1	quinta	...viabilidade...	...variabilidade...
9	3.1	sexta	...exemplares...	...hospedeiros...
13	3.4.1	terceira e quarta	...cujo parasito...	...cujos parasitóides...
21	4.1	sexta	...de repente...	(eliminar)
21	4.1	nona	...(Figura 8)...	(eliminar)
29	4.1.2	sétima	...(1987)...	...(1983)...
35	4.1.3	sexta	...emergidos /pupa...	...emergidos....
42	4.2	segunda	...expostas juntas...	...expostas simultaneamente.
51	5	segunda	...foi influenciado...	...é influenciado...
51	5	quarta	...não afetou...	...não afeta...
51	5	quinta	...diminuiu...	...diminui...
51	5	sétima	...se desenvolveu...	...desenvolve-se...
55		terceira a sexta	GALLO... 649p.	(eliminar o período)
55		décima a décima segunda	MACEDO... 1988.	(eliminar o período)
55		décima sétima a décima nona	MENDONÇA... 1986.	(eliminar o período)
56		décima segunda a décima quarta	RISCO... 34p.	(eliminar o período)

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

Paron, Miriam Rosa

Bioecologia de *Trichospilus diatraeae* cherian & margabandhu, 1942
(Hymenoptera: Eulophidae), endoparasitóide de pupas de lepidoptera / Miriam Rosa
Paron. - - Piracicaba, 1999
57 p. : il.

Tese (doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1999.
Bibliografia.

1. Bioecologia 2. Ciclo da vida 3. Controle biológico 4. Efeito da temperatura 5.
Hemiptera 6. Inseto-parasitóide 7. Pupa 8. Relação hospedeiro-parasito I. Título

CDD 595.79

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte - O Autor"

Aos meus pais Pérola (*in memorian*) e Oswaldo, por todo amor, dedicação e incentivo,

Dedico

Aos meus queridos e numerosos irmãos e irmãs, cunhados e cunhadas, sobrinhos e sobrinhas,

Ofereço

AGRADECIMENTOS

- Ao Dr. Evoneo Berti Filho, Prof. do Depto. de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP, pela orientação, incentivo, amizade, além do suporte material e físico necessários ao bom andamento dos trabalhos;
- Ao Dr. José Roberto P. Parra, Prof. do Depto. de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP, pelas sugestões, incentivo e pela permissão para utilização de material biológico e de câmaras climatizadas;
- Ao Dr. Valmir Antonio Costa, Pesquisador do Instituto Biológico de São Paulo, Estação Experimental de Campinas, pelo incentivo, pelas sugestões, críticas e principalmente pelo companheirismo e amizade;
- À Cooperativa de Produtores de Cana de Açúcar e Álcool do Estado de São Paulo Ltda. (COPERSUCAR), pelo material biológico cedido durante toda a pesquisa;
- Ao Centro Nacional de pesquisa (CNPq), pela concessão de bolsa de estudos para a realização do curso;
- Ao Dr. E. W. Kitajima, do NAP/MEPA da ESALQ/USP, pelas facilidades concedidas na utilização do Microscópio Eletrônico de Varredura de Pressão Variável (MEVPV) e pelo exemplo de dinamismo;

Ao Prof. Breno Leite, do NAP/MEPA da ESALQ/USP, pela colaboração e sugestões imprescindíveis para o processamento e análises de material em microscopia eletrônica;

À funcionária da COPERSUCAR Maria José, pela grande amizade, carinho e colaboração com material biológico utilizado durante toda a pesquisa;

Às funcionárias do laboratório de Controle Biológico, Roselene Pereira e Maria Edilene de Oliveira, pela amizade e colaboração;

À funcionária do laboratório de Biologia de Insetos, Neide Graciano Zerio, pela colaboração com material biológico utilizado durante toda a pesquisa;

Aos professores e funcionários do Depto. de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP, pelos ensinamentos e convívio;

Aos colegas do CPG em Entomologia da ESALQ/USP, pela amizade e convívio;

A André, pelo companheirismo, carinho, incentivo e amizade;

Ao meu "irmão", Alexandre, pelo incentivo, alegria e grande amizade, que certamente me ajudaram a chegar até aqui e pela colaboração na arte final deste trabalho;

Às amigas e amigos, Maria Teresa, Railda, Sônia Micheletti, Therezinha, Marilene, Aninha, Ilza, Fernanda, Salete, Charles, Antônio, Marco, Marcel, Vitor e especialmente a Laila e tantos outros, pela alegria, incentivo e por terem me aturado tantas vezes em momentos difíceis.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	viii
RESUMO	x
SUMMARY	xii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 <i>Trichospilus diatraeae</i>	3
2.1.1 Caracteres morfológicos do adulto	3
2.1.2 Distribuição geográfica, hospedeiros e programas de controle biológico	4
2.1.3 Caracteres biológicos	8
3 MATERIAL E MÉTODOS	9
3.1 Obtenção e identificação do parasitóide	9
3.2 Manutenção da colônia de <i>T. diatraeae</i>	10
3.3 Obtenção dos hospedeiros	11
3.4 Experimentos	12
3.4.1 Biologia de <i>T. diatraeae</i> no hospedeiro <i>D. saccharalis</i>	13
3.4.1.1 Tabela de vida e fertilidade	13
3.4.1.2 Influência de diferentes temperaturas sobre o desenvolvimento do parasitóide	15
3.4.1.3 Influência da densidade do hospedeiro na capacidade reprodutiva do parasitóide	16
3.4.1.4 Influência do armazenamento do hospedeiro na capacidade reprodutiva do parasitóide.....	17
3.4.1.5 Influência do sexo do hospedeiro na capacidade reprodutiva do parasitóide	17

3.4.2	Capacidade reprodutiva do parasitóide em diferentes hospedeiros ...	18
3.4.3	Caracterização de imaturos e adultos de <i>T. diatraeae</i>	19
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4.1	Biologia de <i>Trichospilus diatraeae</i> no hospedeiro <i>Diatraea saccharalis</i>	21
4.1.1	Tabela de vida e fertilidade	22
4.1.2	Influência de diferentes temperaturas no desenvolvimento do parasitóide	28
4.1.3	Influência da densidade do hospedeiro na capacidade reprodutiva do parasitóide	33
4.1.4	Influência do armazenamento do hospedeiro na capacidade reprodutiva do parasitóide	35
4.1.4.1	Hospedeiro armazenado em temperatura ambiente	35
4.1.4.2	Hospedeiro armazenado em baixas temperaturas	37
4.1.5	Influência do sexo do hospedeiro na capacidade reprodutiva do parasitóide	40
4.2	Capacidade reprodutiva do parasitóide em diferentes hospedeiros ...	41
4.3	Caracterização de imaturos e de adultos de <i>T. diatraeae</i>	45
4.4	Considerações finais	49
5	CONCLUSÕES	51
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

LISTA DE FIGURAS

	Página
1 Gaiolas utilizadas para criação de <i>T. diatraeae</i> e tubos de vidro com pupas de <i>Diatraea saccharalis</i> parasitadas por <i>T. diatraeae</i>	11
2 Número de descendentes fêmeas ($l_x m_x$) emergidos por dia a partir de 20 fêmeas de <i>T. diatraeae</i> em pupas de <i>D. saccharalis</i> . Temperatura $25 \pm 1,0^\circ\text{C}$, Umidade Relativa $70 \pm 10\%$, Fotofase 14h	25
3 Curva de sobrevivência, observada e estimada (Weibull), de fêmeas de <i>T. diatraeae</i> , em pupas de <i>D. saccharalis</i> . Temperatura $25 \pm 1,0^\circ\text{C}$, Umidade Relativa $70 \pm 10\%$, Fotofase 14h. Longevidade média= 9,20 dias, parâmetro de forma (a)=8,02, parâmetro de escala (b)=18,83	27
4 Duração do ciclo (ovo a adulto) e velocidade de desenvolvimento de <i>T. diatraeae</i> , em pupas de <i>D. saccharalis</i> , em função da temperatura. Umidade Relativa de $70 \pm 10\%$ e Fotofase 14horas. T_b =temperatura base ..	32
5 Emergência de progênie/pupa e parasitismo de <i>T. diatraeae</i> sobre pupas de <i>D. saccharalis</i> em sete temperaturas constantes. Umidade Relativa de $70 \pm 10\%$ e Fotofase 14h	33
6 Emergência de progênie e parasitismo em pupas de <i>D. saccharalis</i> armazenadas em baixas temperaturas (7 a 10°C) de 1 a 30 dias. Temperatura $25 \pm 1,0^\circ\text{C}$, Umidade Relativa $70 \pm 10\%$, Fotofase 14h	39
7 Número de parasitóides emergidos de hospedeiros testados em três condições experimentais, sendo: experimento 1= hospedeiros expostos individualmente a uma fêmea do parasitóide; experimento 2= hospedeiros expostos juntos a uma fêmea do parasitóide; experimento 3: hospedeiros expostos individualmente a várias fêmeas do parasitóide. Temperatura $25 \pm 1,0^\circ\text{C}$, Umidade Relativa $70 \pm 10\%$, Fotofase 14h	44
8 Desenvolvimento de ovo a adulto de <i>T. diatraeae</i> . A. ovo; B. eclosão da larva; C.-J. larvas; K e L. pré-pupa; M.-P. pupa; Q. Fêmea; R. macho. Detalhes: larvas (S e T) e pupas (U) no interior de pupas de <i>D. saccharalis</i>	47
9 Eletromicrografias de varredura da cabeça de <i>T. diatraeae</i> . A. vista dorsal da cabeça da fêmea; B. vista dorsal da cabeça do macho; C. aparelho bucal da fêmea; D. aparelho bucal do macho	48

LISTA DE TABELAS

Página

1	Longevidade, período de oviposição e produção de progênie de <i>T. diatraeae</i> sobre pupas de <i>D. saccharalis</i> . Temperatura de $25 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, Umidade Relativa $70 \pm 10\%$ e Fotofase 14h	23
2	Tabela de vida de <i>T. diatraeae</i> em pupas de <i>D. saccharalis</i> . Temperatura $25 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, Umidade Relativa $70 \pm 10\%$ e Fotofase 14h	24
3	Parâmetros de crescimento populacional de <i>T. diatraeae</i> em pupas de <i>D. saccharalis</i> , calculados a partir de 20 fêmeas. Temperatura $25 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, Umidade Relativa $70 \pm 10\%$ e Fotofase 14h	28
4	Duração do período de ovo a adulto e número de parasitóides emergidos de <i>T. diatraeae</i> sobre pupas de <i>D. saccharalis</i> em diferentes temperaturas. Umidade Relativa de $70 \pm 10\%$ e Fotofase 14h .	30
5	Temperatura base e constante térmica para o período de ovo a adulto de <i>T. diatraeae</i>	31
6	Número total de parasitóides emergidos e parasitismo de <i>T. diatraeae</i> em pupas de <i>D. saccharalis</i> em diferentes densidades de hospedeiro. Temperatura $25 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, Umidade Relativa $70 \pm 10\%$ e Fotofase 14h ...	35
7	Número de parasitóide emergidos e porcentagem de parasitismo de <i>T. diatraeae</i> em pupas de <i>D. saccharalis</i> recém formadas (0) e armazenadas a $25 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ em um período de 1 a 4 dias. Temperatura $25 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, Umidade Relativa $70 \pm 10\%$ e Fotofase 14h	36
8	Número de parasitóides emergidos e parasitismo de <i>T. diatraeae</i> em pupas de <i>D. saccharalis</i> armazenadas em baixas temperaturas (7 a 10°C) no período de 1 a 30 dias. Temperatura $25 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, Umidade Relativa $70 \pm 10\%$ e Fotofase 14h	38
9	Número de parasitóides emergidos e parasitismo de <i>T. diatraeae</i> em pupas macho e fêmea de <i>D. saccharalis</i> . Temperatura $25 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, Umidade Relativa $70 \pm 10\%$ e Fotofase 14h	40

Página

10	Número de parasitóides emergidos e parasitismo de <i>T. diatraeae</i> sobre pupas de quatro espécies de hospedeiros expostos individualmente a uma fêmea do parasitóide. Temperatura $25 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, Umidade Relativa $70 \pm 10\%$ e Fotofase 14h	41
11	Número de parasitóides emergidos e parasitismo de <i>T. diatraeae</i> sobre pupas de quatro espécies de hospedeiros expostos juntos a uma fêmea do parasitóide. Temperatura $25 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, Umidade Relativa $70 \pm 10\%$ e Fotofase 14h	42
12	Número de parasitóides emergidos e parasitismo de <i>T. diatraeae</i> sobre pupas de quatro hospedeiros expostos individualmente a fêmeas do parasitóide. Temperatura $25 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, Umidade Relativa $70 \pm 10\%$ e Fotofase 14h	43

**BIOECOLOGIA DE *Trichospilus diatraeae* CHERIAN &
MARGABANDHU, 1942 (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE),
ENDOPARASITÓIDE DE PUPAS DE LEPIDOPTERA**

Autor: MIRIAM ROSA PARON

Orientador: Prof. Dr. EVONEO BERTI FILHO

RESUMO

Esta trabalho teve como objetivo estudar a biologia do parasitóide *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu no hospedeiro, a broca da cana de açúcar *Diatraea saccharalis* F. (Lepidoptera: Crambidae). Também foi observado o parasitismo de *T. diatraeae* em outros lepidópteros pragas, sendo: *Anticarsia gemmatalis* Hübner, *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith e *Heliothis virescens* F. (Noctuidae). Os experimentos foram realizados em câmara climatizada do tipo B.O.D. a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, com $70 \pm 10\%$ de Umidade Relativa e Fotofase de 14h, com exceção daquele em que se testou a influência das temperaturas de 18, 20, 22, 25, 28, 30, $32 \pm 1^\circ\text{C}$. Os resultados indicaram que a variação na temperatura afetou a reprodução de *T. diatraeae*; a temperatura base foi de 8°C , com uma constante térmica de 371,88 GD; ocorreu um decréscimo no parasitismo e na emergência de progênie com o aumento da densidade do hospedeiro (1 a 5); o armazenamento de pupas de *D. saccharalis* em baixas temperaturas (7 a 10°C) e a 25°C pode ser feito por até 4 dias sem afetar o desempenho reprodutivo de *T. diatraeae*; as fêmeas produzem alto número de

descendentes no primeiro dia de vida (75,62 parasitóides/fêmea); a longevidade média estimada foi de 9,2 dias com r_m de 0,22 e o tempo médio de cada geração de 21,26 dias; todos os hospedeiros testados foram parasitados, sendo possível utilizá-los na criação de laboratório. Foram apresentadas microfotografias do aparelho bucal e das antenas dos adultos e dos estágios de desenvolvimento de *T. diatraeae*.

**BIOECOLOGY OF *Trichospilus diatraeae* CHERIAN &
MARGABANDHU, 1942 (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE)
ENDOPARASITOID OF LEPIDOPTERA PUPAE**

Author: MIRIAM ROSA PARON

Adviser: Dr. EVONEO BERTI FILHO

SUMMARY

This paper deals with the biology of the parasitoid *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu reared in its natural host, the sugar cane borer *Diatraea saccharalis* F. (Lepidoptera, Crambidae). Also it was observed the parasitism of *T. diatraeae* on other Lepidoptera pupae such as: *Anticarsia gemmatilis* Hübner, *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith and *Heliothis virescens* Fabricius (Noctuidae). The experiments were set in climatized chambers ($25\pm 1^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ RH, 14-hour photoperiod), except in that where the influence of the temperatures 18, 20, 22, 25, 28, 30 and $32\pm 1^{\circ}\text{C}$ was tested. The results have indicated that temperature did affect the reproduction of *T. diatraeae*; the inferior value for temperature threshold was 8°C , with a thermal constant of 371,88 DD; parasitism and progenie emergence decreased as host density increased (1 to 5); *D. saccharalis* pupae can be stored at 7 to 10°C up to 4 days without affecting the reproductive performance of the parasitoid; one day old females produced the highest number of offsprings (75,62 offsprings/female); the mean estimated longevity was 9,2 days, with a $r_m=0,22$ and a mean generation period of 21,26 days; all the

alternative host pupae were parasitized and therefore can be used in laboratory rearing. Microphotographies of *T. diatraeae* imatures and adult bucal pieces and antennas are presented as well.

1 INTRODUÇÃO

A incidência de parasitóides da Ordem Hymenoptera sobre insetos fitófagos é considerável, e isto determinou sua presença em muitos programas de controle biológico.

O sucesso do controle biológico frequentemente depende de um completo entendimento dos organismos envolvidos, tanto da praga como do inseto benéfico e suas interações. Estudos básicos de biologia e ecologia da praga e de seu inimigo natural são, portanto, uma parte integrante do controle biológico (DeBach & Rosen, 1991).

A espécie *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 originária da Ásia, é um parasitóide pupal preferencialmente da Ordem Lepidoptera e tem sido estudado como agente potencial no controle biológico de pragas de importância da cana-de-açúcar, milho e algodão em países da África, Ásia e das Américas (Boucek, 1976). No Brasil, a ocorrência deste parasitóide é registrada pela primeira vez neste trabalho.

Este trabalho teve como objetivos: 1) utilizando pupas do hospedeiro *Diatraea saccharalis* F. (Crambidae), determinar as exigências térmicas de *T. diatraeae*, construir uma tabela de vida e fertilidade do parasitóide e verificar a influência da idade, do sexo e da densidade do hospedeiro sobre o parasitóide; 2) determinar caracteres morfológicos das fases imaturas e dos

adultos do parasitóide e 3) verificar o parasitismo de *T. diatraeae* em possíveis hospedeiros, além de *D. saccharalis*, para criação deste parasitóide em laboratório.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Trichospilus diatraeae*

2.1.1 Caracteres morfológicos do adulto

O gênero *Trichospilus* foi criado por Ferrière (1930), denominando *T. pupivora* como espécie tipo. Este gênero pode ser distinguido pelo abdome alongado e pelo fato da maioria das espécies possuir duas marcas nas asas anteriores formadas por tufo de pêlos pretos, sendo um abaixo da nervura submarginal e outro abaixo da base da nervura marginal.

T. diatraeae foi descrita por Cherian & Margabandhu (1942), que utilizaram exemplares emergidos de pupas de *Diatraea venosata* Walker (Crambidae) provenientes do sul da Índia. As características morfológicas que determinaram sua distinção da espécie *T. pupivora* foram: os adultos de *T. diatraeae* são mais claros e mais largos que *T. pupivora*; diferem também na medida dos artigos antenais, na escultura do escutelo, na variação do número e na disposição de espinhos e nos tufo de pelos nas asas.

Boucek (1976) descreveu os caracteres morfológicos do gênero *Trichospilus* Ferrière, incluindo as duas espécies já descritas e três espécies

novas, a saber: *T. ferrieri* Boucek, *T. vorax* Boucek, *T. boops* Boucek. Outras características morfológicas de *T. diatraeae* foram descritas: o gáster possui uma ampla ranhura central e com pelos pequenos marginais e tufo de pelos nas asas anteriores próximas ao estigma não alcançando a margem anterior.

2.1.2 Distribuição geográfica, hospedeiros e programas de controle biológico

T. diatraeae é considerado polífago, sendo principalmente primário e raramente secundário. O primeiro registro da ocorrência de *T. diatraeae* foi em 1942 no hospedeiro *D. venosata* a broca da haste de gramíneas. Em 1963, foi introduzido nas Ilhas Maurício (Oceano Índico), onde foi registrado parasitando *Chilo sacchariphagus sacchariphagus* Bojer e *Sesamia calamistis* Hampson (Pyralidae). Em 1965 foi levado das Ilhas Maurício para a Ilha Reunião (Oceano Índico) onde mais tarde foi registrado parasitando *S. calamistis*. Outros registros incluem *Hypsipyla robusta* Moore, *Sesamia inferens* Walker, *Sylepta derogata* (F.), *Pyrausta machaeralis* Walker, *Scirpophaga incertulas* Walker e *Chilo sacchariphagus indicus* Kapur na Índia e *P. machaeralis* (Pyralidae) em Burma (Oriente Médio) (Boucek, 1976).

Em 1963, *T. diatraeae* foi transportado da Índia para Trindad e Tobago (Antilhas) e para os E.U.A. para testes em laboratório utilizando como hospedeiro *Diatraea* spp. (Crambidae), pragas de cana-de-açúcar. Nos E.U.A. não houve continuidade da criação. Em Trindad e Tobago, os testes em quarentena indicaram que o parasitóide não discriminou entre pupas de *Diatraea* spp. e pupários de moscas de taquinídeos benéficos (*Lixophaga diatraeae*

(Townsend) e *Paratheresia claripalpis* (Wulp)) e as colônias do parasitóide foram destruídas. Entretanto, este parasitóide foi importado da Índia para a Ilha de Barbados (Antilhas), em 1972, para controle de lepidópteros praga, incluindo *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Noctuidae). Em 1984, foi registrada, em Trindad e Tobago, a presença de *T. diatraeae* em *S. frugiperda* coletada no milho e, em maio de 1985, o parasitóide foi encontrado na Flórida (E.U.A.), em 48 pupas de *Epimecis detexta* Walker (Geometridae), praga de abacate. Foi sugerido que *T. diatraeae* estabeleceu-se em Trindad e Tobago como resultado de escape das criações de 1963, mas na Flórida não pode ter sido esta a causa da presença do parasitóide, pois a ocorrência no norte e também no sul da Flórida indicaram uma ampla propagação. O que pode ter causado esta propagação seria a imigração acidental da Ásia ou de Barbados, mas isto não pode ser provado (Bennett et al., 1987).

Em Trindad e Tobago, foi registrado a presença de *T. diatraeae* em coletas de campo feitas de 1977 a 1987, mas nunca foi encontrado em pupários de Tachinidae. Em Barbados, a presença deste parasitóide foi registrada em coletas de campo em pupas de *Trichoplusia ni* Hubner e *Pseudoplusia includens* Walker (Noctuidae), e *Diaphania hyalinata* L. e *Stenorrhages flegia* Cramer (Pyralidae) e, também, não foi encontrado em pupários de Tachinidae. Pelos extensos registros de Trindad e Tobago e Barbados, e a despeito da falha do parasitóide em discriminar no laboratório entre pupas de Lepidoptera e pupários de Tachinidae, considerou-se que *T. diatraeae* é principalmente um parasitóide pupal e raramente hiperparasita. Desta forma, foi sugerido a criação e liberação do parasitóide em Barbados para controle de lepidópteros pragas (Bennett et al., 1987).

Em Taiwan, Chen et al. (1972) utilizaram o hospedeiro *Brachmia modicella* Christoph em criação experimental de vários parasitóides para

liberação no campo de 1968 a 1969 para o controle de pragas de arroz e cana-de-açúcar. Após as liberações, foram feitas coletas de várias pragas, sendo que em 1968 *T. diatraeae* foi encontrado em 38,7% de pupas de *Sesamia inferens* e em 1969 em 36,9% de pupas.

No início da década de 1970, foram realizadas liberações de *T. diatraeae* para controle de pragas de gramíneas em Senegal (África); com exemplares provenientes da Ilha Reunião, o parasitóide foi multiplicado no hospedeiro *Chilo suppressalis* Walker (Pyralidae) e mais de 7.800.000 parasitóides foram liberados; em 1975 a criação foi interrompida (Bordat et al, 1977).

Étienne & Viette (1973) relataram que *T. diatraeae* foi encontrado nas Ilhas Reunião e Maurício parasitando a broca da cana-de-açúcar *Melanitis leda* L., e *Hedylepta indicata* F. (Pyralidae). Também foi constatada sua presença no hospedeiro *Polydesma umbricola* Boisduval (Noctuidae) praga da conífera *Trichopolydesma collutrix*, sendo que o parasitóide foi encontrado em 32 pupas de 268 pupas coletadas. Depois destes estudos, os autores sugeriram que *T. diatraeae* pode ser considerado um importante inimigo natural desta praga.

Étienne (1975) utilizou *T. diatraeae* também na Ilha Reunião no controle de *H. indicata*, usando *Galleria mellonella* L. como hospedeiro alternativo na criação do parasitóide no laboratório.

Bournier (1975) utilizou este parasitóide no controle biológico de noctuídeos pragas de algodão em Madagascar (África), sendo que na criação experimental utilizou como hospedeiro *Ephestia (Anagasta) kuehniella* Zell.

Em Comores, Breniere et al. (1985) realizaram criação e liberação de vários parasitóides, entre eles *T. diatraeae*, na tentativa de controlar *Chilo partellus* Swinhoe (Pyralidae), praga do milho. A criação foi feita com uma

linhagem proveniente da Ilha Reunião, sendo utilizados os seguintes hospedeiros: *Spodoptera littoralis* Boisduval, *Heliothis armigera* Hübner, *S. calamistis*, *G. mellonella*, *Chilo zacconius* Blesynski e *C. partellus*. Em programas conduzidos de 1981 a 1983, foram liberados aproximadamente 6.300.000 indivíduos, mas nenhuma das espécies liberadas sobreviveu mais de 2 gerações. Contudo, foram renovadas as tentativas visando o controle de *C. partellus*, pois *T. diatraeae* sempre foi considerado um bom inimigo natural de brocas de gramíneas. Para os programas seguintes, algumas considerações foram feitas com o intuito de melhorar as condições de liberação do parasitóide no campo, sendo: número tão grande quanto possível de indivíduos liberados em cada ocasião; liberação de grande número de fêmeas fecundadas prontas para ovipositar; liberação semanal, no momento favorável do dia e no local de grande infestação da praga.

Rodriguez-del-Bosque & Smith (1989) realizaram testes de laboratório, em pequena escala, na Universidade do Texas (E.U.A.) para programas de controle da broca do milho *Diatraea lineolata* Walker (Pyralidae). O objetivo foi determinar a suscetibilidade da praga a alguns parasitóides exóticos, entre eles *T. diatraeae* (obtido de criação da Flórida). Observaram que o parasitóide foi bastante agressivo com 100% de parasitismo. Os autores sugeriram que, apesar de ter sido registrado na literatura que em testes de laboratório este parasitóide se desenvolve em pupários de taquinídeo, ele é considerado um parasitóide primário de lepidópteros no campo, sendo por isto um bom candidato para o controle destas pragas.

Betbeder-Matibet (1990) realizou estudos de criação massal de *C. sacchariphagus* para a obtenção de vários parasitóides, entre eles *T. diatraeae*.

Torres-Bauza (1994) registrou o parasitóide em coletas de campo de pupas de *Dismorphia spio* (Pieridae) em *Inga vera* (Mimosoideae) feitas em Porto Rico (Antilhas).

2.1.3 Caracteres biológicos

Com o objetivo de utilizar *T. diatraeae* no controle biológico de noctuídeos praga de algodão em Madagascar, Bournier (1975) realizou estudos biológicos do parasitóide com o hospedeiro *A. kuehniella*, determinando que sua reprodução é partenogênica arrenótoca. Bordat et al. (1977) determinaram a duração do ciclo biológico (ovo-adulto) de *T. diatraeae* de 17 a 18 dias em pupas de *C. suppressalis*, broca de gramíneas na África. Breniere et al. (1985) realizaram criação de *T. diatraeae* na tentativa de controlar *C. partellus*, uma praga do milho, e determinaram a duração do ciclo biológico (ovo-adulto) de 16 dias. Rodriguez-del-Bosque & Smith (1990) determinaram o período de desenvolvimento de *T. diatraeae* de 13 a 17 dias, utilizando como hospedeiro a broca do milho *D. lineolata*.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado nos laboratórios do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), da Universidade de São Paulo (USP), em Piracicaba, SP.

3.1 Obtenção e identificação do parasitóide

Os primeiros exemplares do parasitóide foram obtidos em uma pupa de Arctidae coletada no campus da ESALQ em junho de 1996. Os parasitóides emergidos foram mantidos no laboratório de Controle Biológico do setor de Entomologia do Departamento. Em 1998, com o objetivo de aumentar a viabilidade genética na criação do parasitóide, procedeu-se a procura de exemplares no campus da ESALQ, em árvores, arbustos e nas edificações. Desta forma, no período de março a maio de 1998, foram coletadas semanalmente pupas de várias espécies de lepidópteros, as quais eram individualizadas em tubos de vidro onde permaneciam até a emergência de inimigos naturais. *Trichospilus diatraeae* foi encontrado em uma pupa da praga de girassol *Chlosyne lacinia saundersii* (L.) (Nymphalidae).

Nas duas ocasiões a identificação foi feita pelo Prof. Dr. Marcelo Teixeira Tavares do Depto. de Ciências Exatas e Naturais do Centro Universitário de Araraquara, SP, com exemplares machos e fêmeas fixados em álcool 70%.

3.2 Manutenção da colônia de *T. diatraeae*

A criação do parasitóide foi feita segundo a metodologia descrita por Costa (1995) para parasitóides de pupários de mosca doméstica, com algumas modificações, como indicado a seguir. Foi utilizada uma sala de criação a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, fotofase de 14h e sem controle da umidade relativa do ar; as gaiolas para a criação eram retangulares, de madeira, com 90x50x40 cm, a parte superior com vidro transparente, as laterais e frontal fechadas com madeira, a posterior metade com madeira e metade com tela de "nylon" ("mesh" 0,3mm). Na face frontal existiam duas aberturas envoltas em manga de tecido para acesso das mãos no interior da gaiola (Figura 1A). Para a alimentação, utilizou-se algodão hidrófilo embebido em solução de mel (10%), colocado em recipientes plásticos. A solução de mel era substituída três vezes por semana.

Os hospedeiros utilizados foram pupas de lepidópteros com idade máxima de 3 dias. Três vezes por semana, estas pupas eram substituídas por outras, sendo as pupas parasitadas eram agitadas em uma peneira de malha 14, para separá-las das fêmeas do parasitóide. A seguir eram colocadas em tubos de vidro de fundo chato (2,5cm de diâmetro e 8,5cm de comprimento), vedados com algodão hidrófugo envolto em tecido "voil", datados, acondicionados em bandejas plásticas e mantidos na sala de criação até a emergência dos

parasitóides; à medida que emergiam, os parasitóides eram transferidos para gaiolas iguais as já descritas (Figura 1B).

Figura1. Gaiolas utilizadas para criação de *T. diatraeae* (A) e tubos de vidro (B) com pupas de *Diatraea saccharalis* parasitadas por *T. diatraeae*.

3.3 Obtenção dos hospedeiros

Para os experimentos e manutenção da criação de *T. diatraeae*, foram utilizadas pupas de: *Diatraea saccharalis* (F.) (Crambidae), *Heliothis virescens* (F.), *Anticarsia gemmatilis* (Hübner), *Spodopetra frugiperda* (J.E.Smith) e *Helicoverpa zea* (Bod.) (Noctuidae), obtidas da criação em dieta artificial, nos laboratórios de Biologia de Insetos do setor de Entomologia do Departamento. No caso de *D. saccharalis*, a maior parte de pupas foi obtida das criações dos laboratórios de Entomologia da COPERSUCAR (Cooperativa de

Produtores de Cana, Açúcar e Álcool do Estado de São Paulo Ltda), Piracicaba, SP.

Foram utilizados outros hospedeiros coletados em campo para verificar o parasitismo de *T. diatraeae* como para a manutenção da criação, sendo: *Thyrintina arnobia* S., *Oxydia* sp. (Geometridae), *C. lacinia saundersii* e *Brassolis* sp. (Satyridae).

3.4 Experimentos

Em todos os experimentos, foram utilizados tubos de vidro (com 2,5 cm de diâmetro e 8,5 cm de comprimento, com fundo chato), vedados com algodão hidrófugo envolto em tecido “voil”.

Para a análise da porcentagem de parasitismo dos experimentos foi calculada a mortalidade corrigida (pupas mortas com ou sem descendentes) pela fórmula de Abbott (1925), descontando-se a mortalidade natural do hospedeiro, esta mortalidade foi verificada em pupas não parasitadas, submetidas às mesmas condições de cada tratamento dos experimentos.

O delineamento estatístico utilizado para avaliar os parâmetros dos experimentos foi inteiramente casualizado, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (SANEST) e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

3.4.1 Biologia de *T. diatraeae* no hospedeiro *D. saccharalis*

Foram utilizadas fêmeas do parasitóide recém emergidas e fecundadas. Para se observar o acasalamento fora do hospedeiro procedeu-se da seguinte forma: em um tubo de vidro foi colocada uma pupa parasitada, cujo parasito deveriam emergir um ou dois dia mais tarde. A seguir a pupa foi perfurada com um estilete e desta forma obtiveram-se parasitóides recém transformados; após ter sido observado o acasalamento, as fêmeas fecundadas foram separadas em outros tubos de vidro. Este procedimento foi feito sob microscópio estereoscópico no aumento de 30-40 vezes com pouca luz, pois, ficavam muito agitadas sob luz mais forte.

Nestes experimentos foram utilizados lotes de pupas de *D. saccharalis* de mesma idade, mesmo sexo e peso semelhante. O peso padrão das pupas foi definido com uma amostra de 50 pupas fêmeas e 50 pupas machos divididas em classes de maior frequência, sendo: fêmea 150mg a 180mg e machos 80mg a 110mg.

3.4.1.1 Tabela de vida e fertilidade

A tabela de vida e fertilidade de *T. diatraeae* foi determinada a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ de temperatura, com $70\pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 14h. Para o parasitismo, foram utilizadas 20 fêmeas do parasitóide fecundadas provenientes de uma mesma pupa. Uma fêmea foi colocada com uma pupa do hospedeiro em cada tubo de vidro, sendo que, após 24 horas, as pupas foram trocadas. O tecido

"voil" que envolve a tampa de algodão do tubo de vidro foi embebido em solução de mel a 10%, sendo trocado diariamente. Tomou-se o cuidado de não tocar nas fêmeas do parasitóide durante o manuseio dos tubos. As pupas retiradas foram individualizadas em tubos de vidro e recolocadas na câmara climatizada a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, até a emergência do parasitóide. Para cada fêmea foram avaliados os seguintes parâmetros: longevidade, emergência dos descendentes, mortalidade dos imaturos e número de pupas mortas.

Para se determinar a mortalidade das fases imaturas do parasitóide, utilizaram-se as pupas tomadas no final da emergência dos parasitóides. Estas pupas foram dissecadas e observadas sob microscópio estereoscópico no aumento de 30-40 vezes, procurando-se no interior das mesmas indícios de imaturos mortos do parasitóide.

A longevidade das fêmeas foi estimada com base na distribuição de Weibull (Sgrillo, 1982), através do programa computacional MOBAE (Modelos Bioestatísticos Aplicados à Entomologia) do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP.

A tabela de vida e fertilidade foi construída segundo Birch (1948) e Southwood (1995), sendo x = idade média das fêmeas parentais no intervalo; l_x = número de fêmeas parentais vivas no intervalo x , expresso como uma fração da população inicial de uma fêmea; m_x = número de descendentes fêmeas nascidos por fêmea parental produzidos na idade x ; $l_x m_x$ = número total de fêmeas nascidas na idade x .

Os parâmetros de crescimento foram calculados por: R_0 = taxa líquida de reprodução (número de descendentes fêmeas produzidas por fêmea parental por geração); MGT ou T = duração média de geração; rm = capacidade

inata de aumentar em número; λ = razão finita de aumento; DT = tempo para a população duplicar em número.

3.4.1.2 Influência de diferentes temperaturas sobre o desenvolvimento do parasitóide

Foram utilizadas câmaras climatizadas do tipo B.O.D. com as temperaturas de 18, 20, 22, 25, 28, 30 e 32°C com variação de $\pm 1^\circ\text{C}$, sendo todas com umidade relativa do ar $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14h.

Uma fêmea do parasitóide foi colocada em cada tubo de vidro com uma pupa do hospedeiro (10 repetições para cada temperatura) e deixada por 24 horas em uma câmara climatizada a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ de temperatura, com $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 14h. A seguir os parasitóides foram retirados e as pupas colocadas nas câmaras com as diferentes temperaturas até a emergência dos parasitóides. Foram colocadas nas câmaras 10 pupas, não parasitadas, para verificar a mortalidade natural do hospedeiro. Para cada temperatura, foram avaliadas as porcentagens do parasitismo, o número de parasitóides emergidos e o período de desenvolvimento de ovo a adulto do parasitóide. Realizou-se a análise de variância (SANEST) dos valores obtidos transformados em $\log(x+k)$, sendo $k=2$.

Foram determinadas a temperatura base (limite térmico inferior de desenvolvimento), coeficiente de determinação e a constante térmica para o período de ovo a adulto do parasitóide, com valores estimados através do método

da hipérbole (Haddad & Parra, 1984), utilizando o programa computacional MOBAE, sendo construído um gráfico com estes valores.

3.4.1.3 Influência da densidade do hospedeiro na capacidade reprodutiva do parasitóide

Em cada tubo de vidro, foram colocadas de 1 a 5 pupas juntamente com uma fêmea do parasitóide com dez repetições cada tratamento. Nas densidades de 2 a 5 os tubos foram manuseados com cuidado para que as pupas não se chocassem e provocassem danos a fêmea. Estes tubos foram colocados na câmara climatizada a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ de temperatura, com $70\pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 14h. Após 48 horas, as fêmeas do parasitóide foram retiradas e as pupas foram individualizadas em tubos de vidro e recolocadas em câmara climatizada de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ até a emergência do parasitóide. Foram também colocadas na câmara 10 pupas, não parasitadas, para verificar a mortalidade natural do hospedeiro.

Foram avaliados para cada tratamento: a porcentagem do parasitismo e o número de parasitóides emergidos.

3.4.1.4 Influência do armazenamento do hospedeiro na capacidade reprodutiva do parasitóide

Foram utilizados lotes de pupas de *D. saccharalis* de recém formadas e armazenadas de 1 a 4 dias em temperatura ambiente e lotes de pupas do hospedeiro armazenadas de 1 a 30 dias em geladeira nas temperaturas de 7 a 10°C [a temperatura base de *D. saccharalis* é de 10,6°C (Melo, 1984)]. As pupas armazenadas sob refrigeração foram retiradas da geladeira 30 minutos antes de serem expostas ao parasitismo, para aclimação à temperatura ambiente. Os tratamentos em relação ao tempo de armazenamento nas temperaturas baixas foram de 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20 e 30 dias. Para o parasitismo foram colocadas em cada tubo de vidro uma fêmea do parasitóide e uma pupa de cada período de armazenamento por 24 horas na câmara climatizada a 25°C de temperatura, com 70±10% de umidade relativa e fotofase de 14h (10 repetições). Dez pupas de cada tratamento, não parasitadas, foram também colocadas na câmara climatizada até a emergência do adulto para verificar a mortalidade natural do hospedeiro. Para cada tratamento foram avaliados: a porcentagem do parasitismo e o número de parasitóides emergidos.

3.4.1.5 Influência do sexo do hospedeiro na capacidade reprodutiva do parasitóide

Pupas do hospedeiro machos e fêmeas foram e expostas ao parasitóide em tubos de vidro. Foi utilizada a proporção de duas pupas por uma fêmea do parasitóide em cada tubo, com 10 repetições. Estes tubos foram

colocados, por 24 horas, na câmara climatizada de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ de temperatura, com $70\pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 14h. A seguir as fêmeas do parasitóide foram retiradas e as pupas foram individualizadas nos tubos e recolocadas na câmara climatizada até a emergência dos parasitóides. Dez pupas, não parasitadas, foram também colocadas na câmara climatizada até a emergência do adulto para se verificar a mortalidade natural do hospedeiro. Foram avaliados os parâmetros de porcentagem do parasitismo e número de parasitóides emergidos.

3.4.2 Capacidade reprodutiva do parasitóide em diferentes hospedeiros

Para estes experimentos foram utilizados, os hospedeiros: *D. saccharalis*, *A. gemmatalis*, *S. frugiperda*, *H. virescens*. Cada espécie de hospedeiro foi proveniente do mesmo lote de pupas, sendo estas recém formadas e com peso semelhante.

Os experimentos foram os seguintes:

1) confinamento: cada espécie de hospedeiro foi exposta individualmente a uma fêmea do parasitóide recém emergida, sendo colocado em tubos de vidro em 10 repetições. As pupas foram retiradas após 24 horas e a seguir foram individualizadas em tubos de vidro e colocadas na câmara climatizada a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, com $70\pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 14h até a emergência do parasitóide;

2) livre escolha: os quatro hospedeiros (uma pupa de cada) foram expostos juntos a uma fêmea do parasitóide e foram colocados em tubos de vidro, com 10 repetições, sendo que estes foram dispostos na posição horizontal dentro de bandejas. As pupas foram retiradas após um período de 24 horas, sendo a seguir individualizadas em tubos de vidro e colocadas na câmara climatizada a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, com $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 14h até a emergência do parasitóide;

3) sem escolha: os quatro hospedeiros (5 pupas de cada) foram colocados em separado na gaiola de criação com parasitóides recém emergidos, e retirados após 24 horas; a seguir foram individualizados nos tubos de vidro e colocados na câmara climatizada a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, com $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 14h até a emergência do parasitóide.

Foram colocadas, na mesma câmara climatizada, 5 pupas de cada hospedeiro, para avaliar a mortalidade natural destes. Nos três experimentos foram analisados a porcentagem do parasitismo e o número de parasitóides emergidos.

3.4.3 Caracterização de imaturos e adultos de *T. diatraeae*

Uma pupa recém formada do hospedeiro *D. saccharalis* foi exposta a uma fêmea do parasitóide em cada tubo de vidro (dez repetições) por 24 horas. As pupas foram, então, colocadas individualmente em tubos de vidro e levados na

câmara climatizada a 25°C de temperatura, com 70±10% de umidade relativa e fotofase de 14h. Desta forma, foram obtidas pupas com todos os estágios de desenvolvimento do parasitóide. As pupas foram dissecadas sob microscópio estereoscópico e os ovos, larvas e pupas encontrados foram observados em uma lâmina de vidro, sendo a seguir medidos (média de 10 indivíduos) e fotografados por um câmara acoplada a um microscópio estereoscópico e também por um microscópio óptico, no laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos do setor de Entomologia do Departamento.

Para a caracterização morfológica dos adultos, foram utilizados machos e fêmeas recém emergidos. A fixação dos exemplares foi feita com vapor de ósmio (metodologia adaptada por Breno Leite (1999), comunicação pessoal); a seguir foram fotografados em microscópio eletrônico de varredura de pressão variável (MEV-PV), no Núcleo de Apoio à Pesquisa / Microscopia Eletrônica Aplicada à Pesquisa Agropecuária- NAP/MEPA da ESALQ/USP.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Biologia de *Trichospilus diatraeae* no hospedeiro *Diatraea saccharalis*

O acasalamento de *T. diatraeae* ocorreu imediatamente após a emergência dos adultos, sendo que o macho procurava e copulava várias fêmeas. Se a fêmea não fosse receptiva empurrava o macho com as pernas posteriores.

Logo após a cópula a fêmea realizava a oviposição. Assim que encontrava o hospedeiro se movimentava sobre a pupa tocando-a com as antenas, de repente, parava e a perfurava com o ovipositor. A seguir se alimentava do fluido que extravasava ou realizava a postura., sendo que esta durava em média 5 a 10 minutos. Geralmente, a fêmea repetia várias vezes no mesmo hospedeiro a sequência de perfurar, alimentar-se e/ou ovipositar (Figura 8).

Bournier (1975) em estudos com *T. diatraeae*, no hospedeiro *Anagasta kuehniella*, observou que a fecundação das fêmeas ocorreu dentro da pupa, pois mesmo separando machos e fêmeas imediatamente após a emergência, descendentes fêmeas e machos eram sempre obtidos; por outro lado, foram obtidos somente descendentes machos de fêmeas emergidas de uma pupa em que só fêmeas estavam presentes.

4.1.1 Tabela de vida e fertilidade

O período de desenvolvimento de *T. diatraeae* de ovo até a emergência do adulto foi de 19 dias nas condições experimentais a 25°C, com 70±10 de umidade relativa e 14 horas de fotofase. A oviposição foi iniciada logo após a emergência do adulto e durou até 5 dias (Tabela 1).

A emergência da progênie de *T. diatraeae* foi em média de 87,5 por fêmea e a razão sexual foi de 0,98 (Tabela 1). No entanto, Bounier (1975) obteve com este parasitóide valores menores de emergência de progênie e razão sexual, sendo respectivamente, 64,96 e 0,97 com o hospedeiro *A. kuehniella* e a 25°C, 75% de umidade relativa e 12:12 de fotoperíodo.

Em outros eulofídeos gregários a emergência de progênie/fêmea foi semelhante a de *T. diatraeae*. Oloo (1992) determinou a emergência de descendentes de 15 fêmeas do eulofídeo *Pediobius furvus* em pupas de *Chilo partellus*, sendo que foram obtidas em média 91,9 indivíduos/fêmea e razão sexual foi de 1:2,9. Bittencourt (1999), determinou em *Palmistichus elaeisis* Delvare & Lasalle a emergência de progênie de 83,6 indivíduos/fêmea e 0,97 a razão sexual.

Não foi considerada a porcentagem de mortalidade de progênie de *T. diatraeae*, pois na dissecação das pupas não foi possível observar restos de imaturos, principalmente ovos e larvas jovens. Por outro lado, com 95% de sobrevivência de imaturos, pode-se considerar que poucos fatores levariam a morte dos imaturos, pois os endoparasitas pupais são mais protegidos das influências de fatores ambientais (dessecação, predação) e no laboratório as condições ambientais são mais controladas.

Tabela 1. Longevidade, período de oviposição e produção de progênie de *T. diatraeae* sobre pupas de *D. saccharalis*. Temperatura de $25 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, Umidade Relativa $70 \pm 10\%$ e Fotofase 14h.

nº fêmea	Longevidade (dias)	Período de oviposição (dias)	Progênie/fêmea		
			total	fêmea	macho
1	9	2	95	93	2
2	1	1	42	42	0
3	9	2	97	96	1
4	11	4	102	99	3
5	11	2	91	89	2
6	10	2	98	96	2
7	9	2	73	73	0
8	12	3	96	94	2
9	2	1	73	72	1
10	12	5	97	95	2
11	9	2	86	85	1
12	13	2	106	103	3
13	8	2	77	76	1
14	10	3	95	93	2
15	10	2	95	92	3
16	12	2	83	82	1
17	8	2	91	89	2
18	7	2	57	57	0
19	10	3	111	109	2
20	11	4	85	84	1
média	$9,2 \pm 3,0$	$2,4 \pm 1,0$	$87,5 \pm 16,0$	$86,0 \pm 15,4$	$1,6 \pm 0,9$

Foi observado uma grande mortalidade das pupas que não deram origem a parasitóides, sendo que muitas pupas estavam secas, principalmente aquelas que foram oferecidas às fêmeas do parasitóide após o período de oviposição, sendo que provavelmente foram utilizadas para alimentação.

Na tabela de vida foi observado que o máximo da produção de progênie de *T. diatraeae* ocorreu no primeiro dia da emergência dos adultos com 79,6 indivíduos, e continuou até o quinto dia de vida do parasitóide, com uma produção total média de 114 indivíduos por fêmea. O número médio de parasitóides fêmeas produzidos após 24 horas foi 75 indivíduos por fêmea (Tabela 2, Figura 2).

Tabela 2. Tabela de vida de *T. diatraeae* em pupas de *D. saccharalis*.
Temperatura $25 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, Umidade Relativa $70 \pm 10\%$ e Fotofase 14h.

$x^{(1)}$	$l_x^{(2)}$	$m_x^{(3)}$	$l_x m_x^{(4)}$
0,5	1,000	-	fase
:	:	:	imatura
19,5	0,950	79,60	75,62
20,5	0,900	22,89	20,60
21,5	0,900	13,80	12,42
22,5	0,900	4,60	4,14
23,5	0,900	2,00	1,80
24,5	0,900	0,00	0,00
25,5	0,850	0,00	0,00
26,5	0,800	0,00	0,00
27,5	0,600	0,00	0,00
28,5	0,400	0,00	0,00
29,5	0,250	0,00	0,00
30,5	0,100	0,00	0,00
31,5	0,050	0,00	0,00
Total			114,58

⁽¹⁾ x = ponto médio de cada idade em dias

⁽²⁾ l_x = expectativa de vida até a idade x

⁽³⁾ m_x = fertilidade específica

⁽⁴⁾ $l_x m_x$ = número de fêmeas nascidas na idade x

Figura 2. Número de descendentes fêmeas ($l_x m_x$) emergidos por dia a partir de 20 fêmeas de *T. diatraeae* em pupas de *D. saccharalis*. Temperatura $25 \pm 1,0^\circ\text{C}$, Umidade Relativa $70 \pm 10\%$ e Fotofase 14h.

Foi observado que a fêmea do parasitóide, além de se alimentar dos fluidos originados da pupa também se alimenta da solução de mel durante toda sua vida.

A longevidade média estimada da fêmea de *T. diatraeae* foi de $9,2 \pm 2,96$ dias e todas as fêmeas estavam mortas depois de 13 dias, mesmo alimentadas com solução de mel a 10%. Em trabalhos envolvendo outros eulofídeos, o açúcar oferecido como alimento contribuiu para o aumento da longevidade do adulto. Oloo (1992) determinou a longevidade média de 7,9 dias para 15 fêmeas de *P. furvus* alimentadas com solução de sacarose a 20%, com pupas de *C. partellus*, e todas as fêmeas estavam mortas depois de 13 dias, enquanto no parasitóide mantido sem açúcar a longevidade média foi de 5 dias.

Okeyo-Owuor et al. (1991) determinaram a longevidade das fêmeas adultas de *Tetrastichus sesamiae* Risbec com pupas de *Maruca testulalis* (Pyralidae) em diferentes concentrações de solução de mel e de sacarose (5 a 20%), constatando que quanto maior a concentração, maior a longevidade e o número de progênie. Naquele trabalho, a longevidade variou de 4,3 a 13,9 dias nas diferentes concentrações de açúcar. Bueno et al. (1986) verificaram que em *Nesolynx* sp. com pupas de *D. saccharalis*, a longevidade das fêmeas com solução de mel (10%) foi aumentada em 1,27 vezes em relação às fêmeas sem alimento.

A curva de sobrevivência de *T. diatraeae* seguiu a distribuição de Weibull (Sgrillo, 1982), com χ^2 de 5.82 (n.s.) (Figura 3). O conhecimento da curva de sobrevivência e a longevidade média determinam um melhor planejamento tanto nas criações de laboratório como nas liberações em campo. A longevidade das fêmeas foi maior do que o período de oviposição (máximo 5 dias). Desta forma, sugere-se que, nas condições ambientais das salas de criação, os parasitóides sejam alimentados menos freqüentemente com solução de mel, para evitar a sobreposição de várias gerações e consequentemente provocar o aumento progressivo da população nas gaiolas de criação.

Figura 3. Curva de sobrevivência, observada e estimada (Weibull), de fêmeas de *T. diatraeae* em pupas de *D. saccharalis*. Temperatura $25 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, Umidade Relativa $70 \pm 10\%$ e Fotofase 14h. Longevidade média= 9,20 dias, parâmetro de forma (a)=8,02, parâmetro de escala (b)=18,83.

Foram obtidos os seguintes parâmetros de crescimento para *T. diatraeae*: para a população duplicar são necessários 3,1 dias, a taxa de aumento (λ) foi de 1,24 por fêmea/dia e a capacidade inata de aumentar de número (r_m) foi de 0,22. Cada fêmea contribui com 114 indivíduos na população (R_0) em um tempo médio entre gerações de 21,3 dias (Tabela 3).

Oloo (1992) determinou a tabela de vida do eulofídeo *P. furvus* em condições ambientais semelhantes ao deste trabalho, obtendo os seguintes resultados para *P. furvus*: $R_0 = 237,25$, $r_m = 0,252$ e $\lambda = 1,29$ e o tempo de cada geração foi de 21,38 dias.

Birch (1948) definiu os parâmetros de crescimento populacional e concluiu que como R_0 não é um índice adequado para comparação entre espécies e entre indivíduos da mesma espécie em condições ambientais diferentes, pois o tempo varia muito, desta forma utiliza-se r_m e λ que são mais úteis. A taxa de aumento por indivíduo (r_m) é obtida na faixa onde a fecundidade e a sobrevivência são máximas, sendo que quanto maior o valor mais bem sucedida será a espécie em um determinado ambiente.

Tabela 3. Parâmetros de crescimento populacional de *T. diatraeae* em pupas de *D. saccharalis*, calculados a partir de 20 fêmeas. Temperatura $25 \pm 1,0^\circ\text{C}$, Umidade Relativa $70 \pm 10\%$ e Fotofase 14h.

$R_0^{(1)}$	$r_m^{(2)}$	$\lambda^{(3)}$	$\text{MGT(T)}^{(4)}$	$\text{DT}^{(5)}$
114,58	0,223	1,24	21,26	3,10

⁽¹⁾ R_0 = taxa líquida de reprodução

⁽²⁾ r_m = capacidade inata de aumentar em número

⁽³⁾ λ = razão finita de aumento

⁽⁴⁾ MGT(T) = tempo médio de geração

⁽⁵⁾ DT = tempo de duplicação da população

4.1.2 Influência de diferentes temperaturas no desenvolvimento do parasitóide

A duração média do período de ovo a adulto de *T. diatraeae* decresceu de 38 a 17 dias com o aumento das temperaturas de 18°C a 30°C com

uma diferença de 21 dias, mantendo-se aproximadamente a mesma a 32°C (Tabela 4). Não houve diferença entre as médias da duração do período de desenvolvimento do parasitóide nas temperaturas de 22 a 32°C e nas temperaturas de 18 e 20°C.

Em trabalhos com eulofídeos, para verificar o efeito da temperatura sobre o desenvolvimento do inseto, resultados semelhantes foram constatados. Parkmam et al. (1987) verificaram em *Pediobius* spp., parasitóides de noctuídeos, que o período de desenvolvimento aumentou com a diminuição de temperatura, sendo de 15 dias a 32°C e 31 dias a 15°C. A longevidade do macho e da fêmea também aumentou com a temperatura baixa, sendo de 7,6 dias a 32°C e de 32,1 dias a 15°C. Bueno et al. (1986) analisaram os efeitos da temperatura no desenvolvimento do eulofídeo *Nesolynx* spp. em pupas de *D. saccharalis* e *Galleria mellonella* e constataram que entre 21°C a 26°C houve uma diminuição de 4,73 para 4,16 dias na duração do período de desenvolvimento do parasitóide.

A 25°C o período de desenvolvimento de *T. diatraeae* do ovo até a emergência do adulto em pupas de *D. saccharalis* foi em média de 19,8 dias, em um intervalo de 18 a 21 dias (Tabela 4). Este resultado foi semelhante aos obtidos para a mesma espécie.

Bournier (1975) verificou que a duração do período de desenvolvimento deste parasitóide de ovo a ovo foi de 20 dias (1 dia de oviposição) a 25°C, UR 70±10% e fotofase de 12 horas, sendo que o autor utilizou como hospedeiro *A. kuehniella*. Bordat et al. (1977) também determinaram a duração do ciclo biológico de *T. diatraeae* de ovo a adulto de 17 a 18 dias a 25°C, UR 70±1% e fotofase de 18 horas, sendo que foi utilizado como hospedeiro *C. suppressalis*.

Breniere et al. (1985) determinaram a duração do ciclo biológico do parasitóide de ovo a adulto de 16 dias em média a 25°C, UR 70±1% e fotofase de 18 horas.

Rodriguez del Bosque & Smith Jr. (1989) obtiveram um período de desenvolvimento de 13 a 17 dias para *T. diatraeae* em pupas de *Diatraea lineolata* a 25°C, UR de 70±10% e fotofase de 14 horas.

Tabela 4. Duração do período de ovo a adulto e número de parasitóides emergidos de *T. diatraeae* sobre pupas de *D. saccharalis* em diferentes temperaturas. Umidade Relativa de 70±10% e Fotofase 14h.

Temperatura (° C)	Duração ⁽¹⁾ (dias)	Intervalo de emergência (dias)	Número de ⁽¹⁾ parasitóides emergidos/pupa
18	38,2±1,7a	37 - 39	52,8±11,9 bc
20	35,0±2,4a	34 - 37	63,7± 7,3 b
22	26,3±1,5 b	24 - 28	71,7±10,8ab
25	19,8±0,7 c	18 - 21	86,0± 7,5a
28	18,3±1,2 c	17 - 19	81,0± 8,4a
30	17,0±0,7 c	16 - 19	35,6±24,3 cd
32	18,1±2,0 c	18 - 19	26,4±22,6 d

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na análise de temperatura base foi verificado que os valores observados da duração do ciclo não diferiram daqueles estimados pela equação de

velocidade de desenvolvimento, com o teste de χ^2 não significativo a nível de 5% de probabilidade. O coeficiente de determinação foi de 92,99%, com a temperatura base de 8°C e a constante térmica igual a 371,88 graus-dia (Tabela 5, Figura 4). Bittencourt (1999) encontrou resultados semelhantes para o período de ovo a adulto de outro eulofídeo, *P. elaeisis* com pupas de *D. saccharalis*, com a constante térmica de 353,1 graus-dia e a temperatura base de 7,5°C, sendo que as condições experimentais foram semelhantes ao deste trabalho.

Tabela 5. Temperatura base e constante térmica para o período de ovo a adulto de *T. diatraeae*.

Parâmetros	Fêmeas
Temperatura base	8°C
Constante térmica	371,88 GD ⁽¹⁾
Equação	$1/D^{(2)} = -0,0211514 + 0,002689 X^{(3)}$
R ²	92,99
$\chi^{2(4)}$	0,9984 ns

⁽¹⁾ GD= graus dias; ⁽²⁾ 1/D= velocidade de desenvolvimento; ⁽³⁾ X=temperatura (°C); ⁽⁴⁾ teste de χ^2 a 5% de probabilidade

Figura 4. Duração do ciclo (ovo a adulto) e velocidade de desenvolvimento de *T. diatraeae*, em pupas de *D. saccharalis*, em função da temperatura. Umidade Relativa de $70 \pm 10\%$ e Fotofase de 14 horas. T_b = temperatura base.

A capacidade reprodutiva de *T. diatraeae* em pupas de *D. saccharalis* foi influenciada pela temperatura. A emergência de progênie aumentou com o aumento da temperatura, até atingirem o máximo a 25°C , e diminuindo a seguir. Não houve diferença entre as médias do número de parasitóides emergidos de nas temperaturas de 20, 22, 25 e 28°C , assim como nas temperaturas de 18, 30 e 32°C (Figura 5). O parasitismo foi semelhante em todas as temperaturas, de 80 a 100%. Foi encontrado em muitas pupas do hospedeiro restos de imaturos, principalmente, larvas grandes e pupas; desta forma, nas temperaturas mais baixas do que 22°C e mais altas do que 28°C pode ter ocorrido oviposição, mas os imaturos não desenvolveram até a emergência.

Figura 5. Emergência de progênie/pupa e parasitismo de *T. diatraeae* sobre pupas de *D. saccharalis* em sete temperaturas constantes. Umidade Relativa de $70 \pm 10\%$ e Fotofase 14h.

4.1.3 Influência da densidade do hospedeiro na capacidade reprodutiva do parasitóide

Houve influência da densidade do hospedeiro no parasitismo e no número total de parasitóide emergidos de *T. diatraeae*. Com o aumento do número de hospedeiros por parasitóide houve uma diminuição na emergência de progênie, sendo que as relações de 1:4 e 1:5 diferiram das densidades de 1 a 3 pupas/fêmea. Entre as relações de 1:1 e 1:3 não houve diferença significativa no número total de parasitóides emergidos (Tabela 6).

O parasitismo diminuiu à medida que se aumentou a densidade do hospedeiro, sendo que ocorreu a morte da maior parte das pupas das quais não emergiram parasitóides. Nas densidade de 4 e 5 pupas/fêmea não houve diferença entre as médias de parasitismo, o mesmo ocorrendo entre as densidades de 2 e 3 pupas (Tabela 6).

Na relação de um parasitóide para uma pupa do hospedeiro (1:1) foi observado o melhor resultado de produção de progênie de *T. diatraeae* considerando 100% de parasitismo. As relações de 1:2 e 1:3 podem ser consideradas, também, com boa produção de progênie, pois houve um número alto de parasitóides emergidos de mais de uma pupa. Nas relações de 1:4 e 1:5, mesmo com a diminuição no número total de parasitóides emergidos, ocorreu parasitismo nas pupas, pois foram observados muitas pupas destruídas sem descendentes. Por outro lado, pode-se considerar que a diminuição do parasitismo e no número de emergência de progênie com o aumento da densidade de pupas, ocorreu devido às dimensões restritas do ambiente utilizado para o experimento (tubos de vidro).

Tabela 6. Número total de parasitóides emergidos e parasitismo de *T. diatraeae* em pupas de *D. saccharalis* em diferentes densidades de hospedeiro. Temperatura $25 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, Umidade Relativa $70 \pm 10\%$ e Fotofase 14h.

Relação Parasitóide:hospedeiro	Parasitismo ⁽¹⁾⁽²⁾ (%)	Número total de parasitóides emergidos/pupa ⁽¹⁾⁽²⁾
1:1	100,0 $\pm$ 0,0a	92,5 $\pm$ 13,3a
1:2	85,0 $\pm$ 0,5 b	105,8 $\pm$ 16,3a
1:3	76,0 $\pm$ 0,8bc	96,7 $\pm$ 18,3a
1:4	52,0 $\pm$ 2,3 c	76,9 $\pm$ 23,4 b
1:5	42,0 $\pm$ 1,4 c	72,4 $\pm$ 22,5b

⁽¹⁾ Médias de 10 repetições (média $\pm$ erro padrão).

⁽²⁾ Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.1.4 Influência do armazenamento do hospedeiro na capacidade reprodutiva do parasitóide

4.1.4.1 Hospedeiro armazenado em temperatura ambiente

Houve diferença significativa entre as médias de porcentagem de parasitismo, mas não houve diferença no número de parasitóides emergidos de *T. diatraeae* em pupas recém formadas (0) e armazenadas em temperatura ambiente

de 1 a 4 dias. As pupas recém formadas e de 1 a 2 dias foram parasitadas igualmente, o mesmo ocorrendo com as pupas de 3 e 4 dias (Tabela 7).

Tabela 7. Número de parasitóide emergidos e porcentagem de parasitismo de *T. diatraeae* em pupas de *D. saccharalis* recém formadas (0) e armazenadas a $25 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ em um período de 1 a 4 dias. Temperatura $25 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, Umidade Relativa $70 \pm 10\%$ e Fotofase 14h.

Tempo de armazenamento (dias)	Parasitismo ⁽¹⁾⁽²⁾ (%)	Número de parasitóides emergidos/pupa ⁽¹⁾⁽²⁾
0 ⁽³⁾	97,9 $\pm$ 5,7a	108,6 $\pm$ 3,4a
1	93,3 $\pm$ 4,3a	98,5 $\pm$ 3,5a
2	91,7 $\pm$ 6,7a	87,4 $\pm$ 4,7ab
3	79,9 $\pm$ 10,3 b	79,9 $\pm$ 10,3 b
4	81,2 $\pm$ 13,2 b	79,4 $\pm$ 9,9 b

⁽¹⁾ Médias de 10 repetições (média $\pm$ erro padrão).

⁽²⁾ Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

⁽³⁾ Pupas recém formadas

Resultados semelhantes foram observados para outros eulofídeos. Duale et al. (1997) determinaram a capacidade reprodutiva de *P. furvus* em pupas de *C. partellus* armazenadas por 0 a 5 dias em temperatura ambiente, verificando que as pupas armazenadas por 0 a 3 dias tiveram melhor produção de progênie do que as pupas armazenadas por 4 e 5 dias. Observaram também que o período de desenvolvimento do parasitóide aumentou de 19 para 22 dias nas pupas mais velhas. Okeuo-Owuor et al. (1991) verificaram que o eulofídeo *T. sesaminae* não

aceitou pupas de *M. testulalis* com idade superior a 6 dias armazenadas em temperatura ambiente, e que a emergência dos parasitóides foi em média de 142 indivíduos em pupas de 0 dia e de 67,4 em pupas armazenadas por 5 dias.

4.1.4.2 Hospedeiro armazenado em baixas temperaturas

O tempo de armazenamento das pupas em baixas temperaturas influenciou a produção de progênie de *T. diatraeae*. Apesar da emergência da progênie ter ocorrido em todas as idades das pupas testadas, houve diminuição no parasitismo e no número de parasitóides emergidos com o aumento do tempo de armazenamento (1 a 30 dias). Nas pupas armazenadas por 1 a 3 dias e entre 4 e 5 dias não houve diferença significativa no número de parasitóides emergidos. Nas pupas armazenadas por 1 a 4 dias não houve diferença significativa no parasitismo (Tabela 8). Por esta análise, pode-se considerar que nas pupas armazenadas entre 1 a 5 dias houve relativa semelhança na capacidade reprodutiva do parasitóide.

Foi observado que muitas pupas armazenadas entre 10 a 30 dias estavam secas, o que proporcionou uma diminuição acentuada na porcentagem do parasitismo.

Tabela 8. Número de parasitóides emergidos e parasitismo de *T. diatraeae* em pupas de *D. saccharalis* armazenadas em baixas temperaturas (7 a 10°C) no período de 1 a 30 dias. Temperatura $25 \pm 1,0^\circ\text{C}$, Umidade Relativa $70 \pm 10\%$ e Fotofase 14h.

Tempo de armazenamento (dias)	Parasitismo ⁽¹⁾⁽²⁾ (%)	Número de parasitóides emergidos/pupa ⁽¹⁾⁽²⁾
1	93,4 $\pm$ 4,3a	107,7 $\pm$ 14,0a
2	89,5 $\pm$ 3,4ab	94,8 $\pm$ 15,5 b
3	85,9 $\pm$ 4,2 b	97,7 $\pm$ 18,7ab
4	87,9 $\pm$ 3,2ab	81,3 $\pm$ 21,3 c
5	68,9 $\pm$ 7,8 c	78,6 $\pm$ 11,2 c
10	41,8 $\pm$ 5,4 d	60,7 $\pm$ 20,1 d
15	34,4 $\pm$ 8,3 d	55,9 $\pm$ 16,6 d
20	55,9 $\pm$ 16,6 d	56,3 $\pm$ 25,3 d
25	16,5 $\pm$ 15,3 e	32,4 $\pm$ 21,4 e
30	8,3 $\pm$ 6,5 f	29,7 $\pm$ 27,3 e

⁽¹⁾ Médias de 10 repetições (média $\pm$ erro padrão).

⁽²⁾ Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Comparando-se os dois experimentos foi observado que nas pupas recém formadas e armazenadas por 1 a 4 dias tanto na temperatura ambiente como nas baixas temperaturas, o parasitóide teve boa capacidade reprodutiva, pois ocorreu mais de 80% de parasitismo e o número médio de parasitóides emergidos variou entre 79 a 108 indivíduos (Figura 6).

Contudo, não foi descartada a possibilidade de se utilizar pupas armazenadas por mais de 4 dias em temperaturas baixas, sendo que este fator de armazenamento do hospedeiro é considerado muito importante para a produção de parasitóides, pois otimiza a criação. Desta forma, sugere-se que se forem tomadas precauções para que as pupas armazenadas não ressequem, poderiam ser utilizadas pupas com mais de 5 dias para a criação de *T. diatraeae*, se não tiver hospedeiros mais novos disponíveis.

Figura 6. Emergência de progênie/pupa e parasitismo em pupas de *D. saccharalis* armazenadas em baixas temperaturas (7 a 10°C) de 1 a 30 dias. Temperatura 25±1,0°C, Umidade Relativa 70±10% e Fotofase 14h.

4.1.5 Influência do sexo do hospedeiro na capacidade reprodutiva do parasitóide

Embora não tenha sido observada diferença significativa na porcentagem de parasitismo de *T. diatraeae* entre as pupas machos e fêmeas de *D. saccharalis*, houve diferença significativa no número de parasitóides emergidos. Esta diferença, provavelmente, foi devida à diferença no tamanho entre as pupas machos e fêmeas, pois as pupas maiores teriam maior capacidade em suportar o desenvolvimento de um maior número de imaturos (Tabela 9).

Como foram expostas duas pupas de cada sexo para cada fêmea, na análise do parasitismo foi encontrado em quase todas as repetições uma das pupas morta e sem imaturos, sendo que, provavelmente, foi utilizada para alimentação.

Tabela 9. Número de parasitóides emergidos e parasitismo de *T. diatraeae* em pupas macho e fêmea de *D. saccharalis*. Temperatura $25 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, Umidade Relativa $70 \pm 10\%$ e Fotofase 14h.

Sexo	Intervalo de peso das pupas (mg)	Parasitismo ⁽¹⁾⁽²⁾ (%)	Número de ⁽¹⁾⁽²⁾ parasitóides emergidos/pupa
Fêmea	150 - 180	96,8 $\pm$ 2,5a	96,5 $\pm$ 8,5a
Macho	80 - 110	91,5 $\pm$ 5,6a	79,0 $\pm$ 8,5b

⁽¹⁾ Médias de 10 repetições (média $\pm$ erro padrão).

⁽²⁾ Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.2 Capacidade reprodutiva do parasitóide em diferentes hospedeiros

Todos os hospedeiros testados foram parasitados e houve emergência de progênie.

Em nenhum dos três experimentos de *T. diatraeae* com os hospedeiros *S. frugiperda*, *A. gemmatalis*, *H. virescens* e *D. saccharalis* foi observada diferença significativa na porcentagem de parasitismo entre as espécies, mas houve diferença significativa no número de parasitóides emergidos.

Tabela 10. Número de parasitóides emergidos e parasitismo de *T. diatraeae* sobre pupas de quatro espécies de hospedeiros expostos individualmente a uma fêmea do parasitóide. Temperatura $25 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, Umidade Relativa $70 \pm 10\%$ e Fotofase 14h.

Hospedeiros	Parasitismo ⁽¹⁾ (%)	Número de parasitóides emergidos/pupa ⁽¹⁾
<i>Spodoptera frugiperda</i>	97,2 $\pm$ 1,3a	105,3 $\pm$ 8,7a
<i>Diatraea saccharalis</i>	96,4 $\pm$ 2,2a	97,5 $\pm$ 6,2ab
<i>Anticarsia gemmatalis</i>	97,1 $\pm$ 1,4a	103,7 $\pm$ 10,4a
<i>Heliothis virescens</i>	95,5 $\pm$ 2,7a	86,7 $\pm$ 2,0 b

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

No experimento em que as pupas foram expostas individualmente a uma fêmea do parasitóide houve diferença significativa no número de parasitóides emergidos entre *H. virescens* e as espécies, *S. frugiperda* e *A.*

gemmatalis (Tabela 10). Já no experimento em que as espécies de hospedeiro foram expostas juntas a uma fêmea do parasitóide houve diferença no número de parasitóides emergidos entre *H. virescens* e as espécies *S. frugiperda* e *D. saccharalis* (Tabela 11).

Tabela 11. Número de parasitóides emergidos e parasitismo de *T. diatraeae* sobre pupas de quatro espécies de hospedeiros expostos juntos a uma fêmea do parasitóide. Temperatura $25 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, Umidade Relativa $70 \pm 10\%$ e Fotofase 14h.

Hospedeiros	Parasitismo ⁽¹⁾ (%)	Número de parasitóides emergidos/pupa ⁽¹⁾
<i>Spodoptera frugiperda</i>	86,3 $\pm$ 7,3a	78,3 $\pm$ 4,2a
<i>Diatraea saccharalis</i>	85,3 $\pm$ 4,3a	76,5 $\pm$ 3,5a
<i>Anticarsia gemmatalis</i>	80,4 $\pm$ 8,6a	64,7 $\pm$ 6,5ab
<i>Heliothis virescens</i>	78,5 $\pm$ 6,1a	58,8 $\pm$ 5,4 b

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

No experimento com exposição dos hospedeiros a várias fêmeas do parasitóide houve parasitismo em quase 100% das pupas de todas as espécies de hospedeiro e houve diferença significativa entre o número de parasitóides emergidos de *S. frugiperda* e as outras espécies (Tabela 12). No entanto, o número de progênie do parasitóide em cada espécie de hospedeiro quase duplicou em relação aos outros experimentos.

Tabela 12. Número de parasitóides emergidos e parasitismo de *T. diatraeae* sobre pupas de quatro hospedeiros expostos individualmente a fêmeas do parasitóide. Temperatura $25 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, Umidade Relativa $70 \pm 10\%$ e Fotofase 14h.

Hospedeiros	Parasitismo ⁽¹⁾ (%)	Número de parasitóides emergidos/pupa ⁽¹⁾
<i>Spodoptera frugiperda</i>	98,8 $\pm$ 0,8a	208,3 $\pm$ 4,5a
<i>Diatraea saccharalis</i>	100,0 $\pm$ 0,0a	194,7 $\pm$ 6,8ab
<i>Anticarsia gemmatalis</i>	98,4 $\pm$ 1,2a	186,7 $\pm$ 2,8 b
<i>Heliothis virescens</i>	95,3 $\pm$ 2,3ab	170,5 $\pm$ 1,3 bc

⁽¹⁾Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

A emergência de progênie de pupas expostas nas gaiolas, pode ainda ser maior se os hospedeiros forem parasitados por mais de 24 horas, pois na criação do parasitóide no laboratório foram observados números de descendentes superiores a 300 indivíduos em uma única pupa de *D. saccharalis* exposta ao parasitismo por aproximadamente 48 horas. Entretanto, em algumas destas pupas foi observada a não emergência de progênie. Nestes casos, a dissecação das pupas indicou a presença de um grande número de imaturos (superparasitismo); também, foi observado em algumas destas pupas, maior número de adultos machos do que fêmeas, provavelmente, devido a presença de fêmeas não acasaladas liberadas dentro das gaiolas. Rodriguez del Bosque & Smith Jr. (1989) verificaram a produção de 280 a 450 indivíduos de *T. diatraeae* em cada pupa de *D. lineolata* expost a várias fêmeas do parasitóide ao mesmo tempo.

Apesar de não ter sido observado preferência do parasitóide a uma das espécies de hospedeiro, comparando-se o número de parasitóides emergidos nas 4 espécies dos três experimentos (figura 7), observou-se que foi menor em *H. virescens* e maior em *S. frugiperda*, sendo que entre *D. saccharalis* e *A. gemmatalis* quase não se observa diferença. Nos experimentos 2 (com escolha) e 3 (sem escolha) pode-se observar estas diferenças mais claramente. Estas diferenças entre as espécies de hospedeiro podem ser atribuídas à variação de tamanho entre os hospedeiros (as pupas maiores suportam o desenvolvimento de um maior número de imaturos), ou devido à resistência mecânica do tegumento das pupas, o que diminuiria a oviposição.

Figura 7. Número de parasitóides emergidos de hospedeiros testados em três condições experimentais, sendo: experimento 1= hospedeiros expostos individualmente a uma fêmea do parasitóide; experimento 2= hospedeiros expostos juntos a uma fêmea do parasitóide; experimento 3: hospedeiros expostos individualmente a várias fêmeas do parasitóide. Temperatura $25 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, Umidade Relativa $70 \pm 10\%$ e Fotofase 14h.

4.3 Caracterização de imaturos e de adultos de *T. diatraeae*

A duração do período de ovo foi avaliada juntamente com o início do período larval e esta variou de 1 a 2 dias. O período larval variou de 7 a 8 dias e o período de pré-pupa e pupa de 9 a 10 dias.

Os ovos de *T. diatraeae* têm em média 0,2mm de comprimento, são hialinos, sem esculturações, podendo-se observar o conteúdo interno. São do tipo himenopteriformes e mais ou menos alongados nas extremidades (Figura 8 A). Em aproximadamente 24 horas, os ovos se apresentam quase totalmente transparentes, ocorrendo a eclosão das larvas (Figura 8 B).

As larvas de 1 e 2 dias têm em média 0,35mm de comprimento e apresentam cutícula transparente (Figura 8 C e D). As larvas de 3 e 4 dias têm em média 0,65 mm de comprimento, sendo que perdem gradualmente a transparência até tornarem-se brancas, com a segmentação do corpo bem definida (Figura 8 E, F e S). As larvas de 5 e 6 dias têm em média 1,2 mm de comprimento e são opacas (Figura 8 G e H). As larvas de 7 dias têm em média 2,0 mm e apresentam o intestino escuro (acúmulo de mecônio) (Figura 8 I). As larvas de 8 dias, quando atingem o máximo de desenvolvimento, têm em média 2,5 mm de comprimento e apresentam o intestino limpo, devido a eliminação do mecônio (Figura 8 J e T).

A pré-pupa (9 dias) têm em média 2,3 mm de comprimento, são brancas e apresentam definições da cabeça, tórax e abdome (Figura 8 K e L). A pupa recém formada (10 dias) têm em média 2,3mm de comprimento, apresentam apêndices alares e olhos que são, inicialmente de coloração rósea e, posteriormente, tornam-se vermelhos (Figura 8 M, N e U). As pupas com mais de 10 dias têm em média 2,5mm de comprimento e o tegumento gradualmente

escurece até a coloração castanho amarelada, devido a esclerotização da cutícula. (Figura 8 O e P).

Os adultos de *T. diatraeae* são de coloração castanho amarelado e têm dimorfismo sexual acentuado. As fêmeas têm em média 3,2 mm de comprimento e os machos têm em média 2,6 mm de comprimento e a forma do abdome das fêmeas é arredondada e dos machos o abdome é mais estreito (Figura 8 Q e R). As fêmeas possuem a inserção das antenas na parte central da cabeça e os machos lateralmente (Figura 9 A e B) e as mandíbulas das fêmeas são mais desenvolvidas do que nos machos (Figura 9 C e D).

Bournier (1975) observou o aparelho bucal do parasitóide e verificou que as mandíbulas das fêmeas são mais eficazes do que nos machos, pois possuem dentículos mandibulares maiores e músculos mandibulares mais fortes, sendo as fêmeas que fazem o orifício para emergirem do hospedeiro. Desta forma, se não houver fêmeas dentro do hospedeiro os machos não emergem e morrem.

Figura 8. Desenvolvimento de ovo a adulto de *T. diatraeae*. A. ovo; B. eclosão da larva; C - J. larvas; K e L. pré-pupa; M - P. pupa; Q. fêmea; R. macho. Detalhes: larvas (S e T) e pupas (U) no interior de pupas de *D. saccharalis*.

Figura 9. Eletromicrografias de varredura da cabeça de *T. diatraeae*. A. vista dorsal da cabeça da fêmea; B. vista dorsal da cabeça do macho; C. aparelho bucal da fêmea; D. aparelho bucal do macho. As setas indicam a mandíbula.

4.4 Considerações finais

Pelos estudos biológicos realizados com *T. diatraeae* em *D. saccharalis*, pode-se considerar que o parasitóide tem boas perspectivas de ser empregado em programas de controle biológico de lepidópteros pragas. Os estudos deste trabalho foram importantes, porém, preliminares, e antes de se recomendar liberações em campo para controle de praga, outros estudos ainda são necessários como, efeito da umidade relativa e luminosidade na capacidade reprodutiva do parasitóide, habilidade de procura do hospedeiro, número ideal de indivíduos a serem liberados, etc.

Umas das principais qualidades do parasitóide, determinada neste trabalho, foi a alta produção de progênie (média de 114 indivíduos/fêmea) em curto período (5 dias). Esta qualidade, juntamente com o maior número de fêmeas produzidas, na razão sexual de 0,98, proporcionam a obtenção de várias gerações do parasitóide em pequeno espaço de tempo.

Em relação ao efeito da temperatura no desenvolvimento do parasitóide em laboratório, determinou-se que a 25°C e 28°C ocorreu maior produção de progênie e a menor duração do ciclo biológico em relação as temperaturas de 18, 20, 22, 30 e 32°C.

Para manter a criação do parasitóide é necessário ter hospedeiros disponíveis periodicamente, mas pode ocorrer períodos em que há escassez destes. Desta forma, pode-se utilizar hospedeiros armazenados, mas de maneira que não afete o desenvolvimento do parasitóide. No caso de *T. diatraeae* com o hospedeiro *D. saccharalis*, foram aceitas pupas armazenadas em baixas temperaturas (7 a 10°C) e a 25°C por no máximo 4 dias.

Outro fator importante para a criação de parasitóides é a possibilidade de se utilizar hospedeiros de substituição quando houver escassez de uma espécie. Para a criação de *T. diatraeae* podem ser utilizados *D. saccharalis*, *S. frugiperda*, *A. gemmatalis* e *H. virescens* com a mesma eficiência.

5 CONCLUSÕES

- *Trichospilus diatraeae* possui alto potencial de crescimento populacional;
- o desenvolvimento de *T. diatraeae* foi influenciado nas temperaturas de 18, 20, 30 e 32°C;
- o armazenamento do hospedeiro *Diatraeae saccharalis* a baixas temperaturas (7 a 10°C) e a 25°C por até 4 dias não afetou o desempenho reprodutivo de *T. diatraeae*;
- a variação de densidade do hospedeiro de 1 a 5 pupas/fêmea diminuiu a capacidade reprodutiva de *T. diatraeae*;
- *T. diatraeae* se desenvolveu em pupas dos hospedeiros: *D. saccharalis*, *Anticarsia gemmatilis*, *Spodoptera frugiperda* e *Heliothis virescens*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v.18, p.265-267, 1925.
- BENNETT, F.D.; GLENN, H.; YASEEN, M.; BARANOWSKI, R.M. Records of *Trichospilus diatraeae*, an Asian parasite (Hymenoptera: Eulophidae) from the Caribbean and Florida. **Florida Entomologist**, v. 70, n.1, p.184-186, 1987.
- BETBEDER-MATIBET, M. Elevage de plusieurs especes du genre *Chilo* et de certains de leurs parasites pour la lutte biologique contre les foreurs des graminees en Afrique. **Insect Science and Application**, v.11, n.4/5, p.617-623, 1990.
- BIRCH, L. C. The intrinsic rate of natural increase of an insect population. **Journal of Animal Ecology**, v.17, p.15-26, 1948.
- BITTENCOURT, M.A.L. Aspectos biológicos de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae). Piracicaba, 1999. 75p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

BORDAT, D.; BRENIERE, J.; COQUARD, J. Foreurs de graminées africaines: parasitisme et techniques d'élevage. **Agronomie Tropicale**, v.32, n.4, p.391-399, 1977.

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

BOURNIER, J. P. Sur la reproduction parthenogenetique de *Trichospilus diatraeae* Cher. et Margab. (Hymenoptera: Chalcidoidea). **Bulletin de la Société Entomologique de France**, v.80, n.5/6, p.116-118, 1975.

BRENIÈRE, J.; BORDAT, D.; VERCAMBRE, B.; HAMZA, H.; RENAND, M. Les opérations de lutte biologique contre le foreur du maïs *Chilo partellus* (Swinhoe), Lepidoptera, dans L'île de Ngazidja. **Agronomie Tropicale**, v.40, n.2, p.157-166, 1985.

BUENO, V. H. P.; MATIOLI, J. C.; BERTI-FILHO, E. Influência da temperatura e do tipo de hospedeiro no desenvolvimento de *Nesolynx* sp. (Hymenoptera: Eulophidae). **IPEF**, n.34, p.35-39, dez., 1986.

CHEN, C.B.; ROTHSCCHILD, G.D.H. (ed.); WATERHOUSE, D.F. (ed.). Artificial propagation of *Trichogramma australicum*, *Trichogramma japonicum*, *Trichospilus diatraeae* and *Tetrastichus inferens* for the control of rice and sugar cane borers in Taiwan. THE TWELFTH PACIFIC SCIENCE CONGRESS, 9, Canberra, 1971. **Research on rice borers, related pests and their natural enemies**, n.45, p.47-49, 1972.

CHERIAN, M.C.; MARGABANDHU, V. A new species of *Trichospilus* (Hymenoptera: Chalcidoidea) from south India. **Indian Journal of Entomology**, v.4, p.101-102, 1942.

COSTA, V. A. Efeito da temperatura na biologia de *Spalangia gemina* Boucek, 1963 (Hymenoptera, Pteromalidae), parasitóide pupal de *Musa domestica* L., 1758 (Diptera, Muscidae). Piracicaba, 1995. 67p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.

DeBACH, P.; ROSEN, D. **Biological control by natural enemies**. Cambridge: Cambridge University Press, 1991. 440p.

DUALE, A. H.; NWILENE, F.E.; OKWAKPAM, B. A.. Suitability of pupae of the stem borer *Chilo partellus* (Swinhoe) (Lepidoptera: Pyralidae) of various ages for parasitism by *Pediobius furvus* (Gahan) (Hymenoptera: Eulophidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 121, p. 147-150, 1997.

ÉTIENNE, J. Notes sur l'élevage et la biologie de *Pseudoperichaeta laevis* (Diptera: Tachinidae) sur hôte de laboratoire. **Entomophaga**, v.20, n.1, p. 105-111, 1975.

ÉTIENNE, J.; VIETTE, P. Nouvelle note sur *Polydesma umbricola* Boisduval (Lepidoptera: Noctuidae). **Bulletin de la Société Entomologique de France**, v.78, n.3/4, p.98-107, 1973.

FERRIÈRE, C. Notes on Asiatic Chacidoidea. **Bulletin of Entomological Research**, v.21, p.353-360, 1930,

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BATISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D. **Manual de entomologia agrícola**. Piracicaba: Ed. Ceres, 1988. 649p.

HADDAD, M.L.; PARRA, J.R.P. **Métodos para estimar os limites térmicos e a faixa ótima de desenvolvimento das diferentes fases do ciclo evolutivo dos insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1984. 12p. (Agricultura e Desenvolvimento).

MACEDO, N.; BOTELHO, P.S.M. Controle integrado da broca-da-cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera, Pyralidae). **Brasil Açucareiro**, v. 106, n. 2, p. 2-12, 1988.

MELO, A. B. P. Biologia de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera– Pyralidae) em diferentes temperaturas para determinação das exigências térmicas. Piracicaba, 1984. 83p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

MENDONÇA, A .F. Controle integrado de pragas de cana-de-açúcar na América Latina e Caribe. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 10, Rio de Janeiro, 1986. **Resumos**. Rio de Janeiro: UFRJ, 1986.

OKEYO-OWUOR, J.B.; OLOO G. L.; AGWARO, P. O . Bionomics of *Tetrastichus sesamiae* (Hymenoptera: Eulophidae), a pupal endo-parasitoid of *Maruca testulalis* (Lepidoptera: Pyralidae). **Entomophaga**, v. 36, n.3, p.417-423, 1991.

OLOO, G. W. Life tables and intrinsic rate of natural increase of *Pediobius furvus* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Chilo partellus* (Lep.: Pyralidae). **Entomophaga**, v.37, n.1, p.29-35, 1992.

PARKMAN, P.; JONES JR., W.A.; TURNIPSEED, S.G. Biology of *Pediobius* sp. near *facialis* (Hymenoptera: Eulophidae), an imported pupal parasitoid of *Pseudoplusia includens* and *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). **Enviromental Entomology**, v.12, p.1669-1672, 1983.

RISCO, S.H.; MENDONÇA, A.F. **Programa Nacional de Controle Biológico da Broca da Cana-de-Açúcar, *Diatraea* spp. no Brasil**. Rio Largo: IAA, PLANALSUCAR, COONE, 1974. 34p.

RODRIGUEZ-DEL-BOSQUE, L.A.; SMITH JUNIOR, J.W. Parasitization of *Diatraea lineolata* pupa and diapausing larvae by several exotic parasites. **Florida Entomologist**, v.72, n.4, p.703-705, 1989.

SGRILLO, R.B. A distribuição de Weibull como modelo de sobrevivência de insetos. **Ecossistema**, v.7, n.1, p.9-13, 1982.

SOUTHWOOD, T. R. E. **Ecological methods**. 2 ed. London: Chapman & Hall, 1995. 524p.

TORRES-BAUZA, J.A. Hymenopterous parasitoids of *Dismorfia spio* (Pieridae: Dismorphiinae). **Journal of the Lepidopterist's Society**, v.48, n.3, p.266, 1994.