

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Bioecologia de *Spodoptera frugiperda* e de seus parasitóides de ovos
Telenomus remus, *Trichogramma atopovirilia* e *T. pretiosum***

Cherre Sade Bezerra da Silva

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de concentração: Entomologia

**Piracicaba
2011**

Cherre Sade Bezerra da Silva
Licenciado em Ciências – Habilitação Biologia

Bioecologia de *Spodoptera frugiperda* e de seus parasitóides de ovos *Telenomus remus*, *Trichogramma atopovirilia* e *T. pretiosum*

Orientador:
Prof. Dr. **JOSÉ ROBERTO POSTALI PARRA**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de concentração: Entomologia

Piracicaba
2011

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP**

Silva, Cherre Sade Bezerra da

Bioecologia de *Spodoptera frugiperda* e de seus parasitóides de ovos *Telenomus remus*,
Trichogramma atopovirilia e *T. pretiosum* / Cherre Sade Bezerra da Silva. - - Piracicaba,
2011.

126 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2011.

1. Competição animal 2. Comportamento sexual animal 3. Ecologia animal 4. Lagartas 5. Oviposição 6. Parasitismo 7. Predação - Biologia 8. Temperatura I. Título

CDD 632.78
S586b

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

A todos os cientistas que são movidos pela curiosidade.

AGRADECIMENTOS

Aos colaboradores diretos deste trabalho:

Ao querido Prof. Dr. **José Roberto Postali Parra**, cujo exemplo de ética e profissionalismo me marcaram sobremaneira. Agradeço por ter me concedido a honra de ser seu orientado e pela valiosa orientação;

À querida amiga **Mariana Graciano Zério**, pelo imprescindível apoio na criação dos insetos e instalação dos bioensaios. Muito obrigado por ser tão competente e prestimosa.

À querida amiga **Jaci Mendes Vieira**, pela identificação dos tricogramatídeos e pela parceria no meu “cross fox”;

À querida amiga **Maria Fernanda Gomes Villalba Peñafior**, pela inestimável ajuda nos bioensaios, pelas centenas de horas analisando os vídeos, mas, principalmente, pela inspiração, motivação e amizade;

À querida amiga **Maria Emilene Correia de Oliveira**, incrível parceira. Muito obrigado pelo apoio na condução dos experimentos, contagem de ovos, incentivo e amizade;

Ao Prof. Dr. **Luis Carlos Marchini**, por ter disponibilizado os equipamentos para contagem de ovos;

Às queridas amigas **Marcy Fonseca** pela parceria no estudo de comportamento sexual de *Spodoptera frugiperda*; e a **Patrícia Milano** pela confecção do esquema de comportamento sexual desta espécie;

A **Aloísio Coelho Júnior**, pelo apoio nos cálculos de temperatura base e constante térmica;

Às técnicas **Neide Graciano Zério** e **Arodi Prado** pelo apoio na criação dos insetos e condução dos bioensaios;

À bibliotecária **Eliana Maria Garcia**, pela ajuda e rapidez na revisão da parte editorial da tese;

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)** e à **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pela concessão de bolsa de estudos.

Muito obrigado.

Aos colaboradores indiretos, porém imprescindíveis, deste trabalho:

Ao divino criador **Olorum**, sagrados **orixás, guias e mentores** espirituais, por tudo;
Aos meus queridos pais, **Maria e Pedro**, e aos meus queridos irmãos, **Carla e Clóvis**,
pelo apoio e torcida;

À querida Dra. **Flávia Rabelo Barbosa**, por acreditar em mim mesmo antes que eu
conseguisse fazê-lo;

À querida Profa. Dra. **Elisa Viñuela** e a todos os professores e amigos da “Unidad de
Protección de Cultivos” (Universidad Politécnica de Madrid), por terem me recebido tão
bem em seu laboratório, pela valiosa orientação e amizade durante o meu estágio na
Espanha;

Ao Prof. **Celso Omoto** pelo exemplo de profissionalismo e pela orientação e estímulo
durante o preparo de meu seminário;

A todos os amigos que compartilharam as aulas e laboratórios comigo na ESALQ,
especialmente a **Eliane Grisoto, Alexandre Diniz, Cristiane Müller, Danielle
Thomazoni, Mônica Silva Santos, Gerane Celly Dias Bezerra, Márcio Silva, Claudia
Fidelis Marinho, Angelina Marcomini, Érika Japhyassu e Amanda Rodrigues**;
A **Eduardo Javier Velázquez Cruz, Saioa Legarrea, Beatriz Barbero** e a **Luciane
Loures**, pelo apoio na condução dos experimentos e pela maravilhosa parceria todas
as vezes que “salimos de fiesta” pelas ruas de Madri;

Às queridas **Mariuxi Loréna Gómez Torres e Nivia da Silva Dias** pelo exemplo de
perseverança e determinação, estímulo e amizade;

Aos amigos **José Eudes de Moraes Oliveira e Inez Vilar** pelas boas vibrações e
estímulo constantes;

A todos os bailarinos da **Oficina da Dança**, especialmente a **Gabriela Frota Cezarino**
e às professoras **Marcela Lacrete Filippini, Tânia Lacrete e Ana Cristina Vianna
Fioravante**, pelo incentivo, inspiração, disciplina e por todos os ensinamentos
transmitidos;

Agradeço especialmente às queridas amigas **Rosemari Padilha, Rosecler Padilha,
Mauritânia Gava Sanches** e a toda a família do **Núcleo de Umbanda Sagrada “Sete
Luzes Vivas e Divinas”**, por terem me acolhido com tanto amor e respeito.

Laroiê Exu, Exu é mojubá, salve as senhoras Pombagiras, Pombagiras saravá.

“Tínhamos de memorizar e de nos lembrar de tudo, gostássemos ou não. Esse tipo de coerção tinha um efeito tão negativo que, após ter passado nas provas finais e ser aprovado, recusei-me a pensar em qualquer coisa que se referisse a problemas científicos por mais de um ano... É um milagre que os métodos atuais de ensino não tenham destruído nos alunos o espírito de pesquisa, pois essa delicada planta necessita, além de estímulo, de total liberdade. Sem ela, está condenada a extinguir-se. É um grande engano pensar que o prazer da busca e da pesquisa pode ser estimulado pela coerção ou pela imposição como uma obrigação.”

Albert Einstein

SUMÁRIO

RESUMO.....	13
ABSTRACT.....	15
1 INTRODUÇÃO.....	17
Referências.....	20
2 COMPORTAMENTO REPRODUTIVO DE <i>Spodoptera frugiperda</i> E RITMO DIÁRIO DE OVIPOSIÇÃO DE <i>Telenomus remus</i>	23
Resumo.....	23
Abstract.....	23
2.1 Introdução.....	24
2.2 Material e métodos.....	26
2.2.1 Insetos.....	26
2.2.1.1 <i>S. frugiperda</i>	26
2.2.1.2 <i>T. remus</i>	27
2.2.2 Gaiolas.....	28
2.2.3 Observação do comportamento de <i>S. frugiperda</i>	30
2.2.4 Quantidade, coloração e viabilidade dos ovos.....	31
2.2.5 Ritmo de oviposição de <i>T. remus</i>	33
2.3 Resultados.....	33
2.3.1 Comportamento reprodutivo de <i>S. frugiperda</i>	33
2.3.2 Quantidade, coloração e viabilidade dos ovos.....	41
2.3.3 Ritmo de oviposição de <i>T. remus</i>	42
2.4 Discussão.....	43
2.5 Conclusão.....	47
Referências.....	47
3 EFEITO DA TEMPERATURA SOBRE CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS E EXIGÊNCIAS TÉRMICAS DE TRÊS ESPÉCIES DE PARASITOIDES DE OVOS DE <i>Spodoptera frugiperda</i>	51
Resumo.....	51
Abstract.....	51
3.1 Introdução.....	52

3.2 Material e métodos.....	54
3.2.1 Obtenção e criação dos insetos.....	54
3.2.2 Procedimentos experimentais.....	56
3.3 Resultados.....	58
3.4 Discussão.....	63
3.5 Conclusão.....	66
Referências.....	66
4 COMPETIÇÕES INTRA E INTERESPECÍFICAS DE PARASITOIDES DE OVOS DE <i>Spodoptera frugiperda</i>	71
Resumo.....	71
Abstract.....	71
4.1 Introdução.....	72
4.2 Material e métodos.....	74
4.2.1 Procedimentos gerais.....	74
4.2.2 Análise dos dados.....	77
4.3 Resultados.....	78
4.3.1 Competição externa.....	78
4.3.1.1 <i>Telenomus remus</i>	78
4.3.1.2 <i>Trichogramma atopovirilia</i>	82
4.3.1.2 <i>Trichogramma pretiosum</i>	88
4.3.2 Competição interna.....	92
4.3.2.1 Adultos emergidos.....	92
4.3.2.2 Razão sexual e morte de imaturos.....	93
4.3.2.3 Dominância da competição interespecífica.....	95
4.4 Discussão.....	97
4.5 Conclusão.....	103
Referências.....	103
5 COMPETIÇÃO INTERNA DE TRÊS PARASITOIDES DE OVOS DE <i>Spodoptera frugiperda</i>	107
Resumo.....	107
Abstract.....	107

5.1 Introdução.....	107
5.2 Material e métodos.....	109
5.2.1 Insetos.....	109
5.2.2 Procedimentos experimentais.....	109
5.2.3 Análise.....	110
5.3 Resultados.....	110
5.3.1 Bioensaio 1 - <i>T. remus</i> , <i>T. atopovirilia</i> ou <i>T. pretiosum</i> versus <i>T. remus</i>	110
5.3.2 Bioensaio 2 - <i>T. remus</i> , <i>T. atopovirilia</i> ou <i>T. pretiosum</i> versus <i>T. atopovirilia</i>	115
5.3.3 Bioensaio 3 - <i>T. remus</i> , <i>T. atopovirilia</i> ou <i>T. pretiosum</i> versus <i>T. pretiosum</i>	117
5.4 Discussão.....	120
5.5 Conclusão.....	124
Referências.....	124

RESUMO

Bioecologia de *Spodoptera frugiperda* e de seus parasitóides de ovos *Telenomus remus*, *Trichogramma atopovirilia* e *T. pretiosum*

Os seres vivos estão constantemente influenciando e sendo influenciados pelo meio ambiente. Esta interação pode afetar diretamente o comportamento e a sobrevivência destes seres vivos, incluindo os insetos. O objetivo deste trabalho foi descrever os efeitos de fatores bióticos e abióticos sobre o comportamento e sobrevivência de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) e de seus parasitóides de ovos *Telenomus remus* Nixon 1937 (Hymenoptera: Scelionidae), *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner 1983 e *T. pretiosum* Riley 1879 (Hym.: Trichogrammatidae). Os resultados mostraram que adultos de *S. frugiperda* realizam suas atividades reprodutivas em períodos bem definidos de sua vida, preferencialmente desde o início até meados da escotofase. Fêmeas de *T. remus* realizaram parasitismo de ovos de *S. frugiperda* tanto durante o dia quanto durante a noite. *T. atopovirilia* foi, dentre as três espécies de parasitóides estudadas, a que apresentou a mais ampla faixa térmica para desenvolvimento ótimo, podendo apresentar elevado potencial de controle de *S. frugiperda* em regiões quentes como frias. A sobrevivência e os comportamentos de forrageamento de *T. remus*, *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* foram afetados pelas competições intra e/ou interespecíficas, sendo os efeitos destas competições peculiares para cada uma das espécies. A competição intra-específica interna afetou a sobrevivência de *T. atopovirilia*, mas não a de *T. pretiosum* nem a de *T. remus*. As competições interespecíficas internas afetaram a sobrevivência destas três espécies, sendo a ordem de parasitismo e o intervalo entre as oviposições determinantes para o resultado da competição. Observou-se emergência das duas espécies de *Trichogramma* a partir de um único ovo multiparasitado. A espécie *T. atopovirilia*, dentre as três espécies estudadas, foi a que apresentou maior probabilidade de vencer na competição interna interespecífica. Estes resultados sugerem que pistas químicas (ex.: feromônios) liberadas por adultos de *S. frugiperda* podem ser utilizadas como cairomônios por fêmeas de *T. remus* durante o período noturno, viabilizando o fenômeno de forésia, e que a temperatura e competição afetam a sobrevivência e/ou o comportamento de *T. remus*, *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*, devendo ser consideradas na escolha da espécie ou combinação de espécies a ser liberada em campo visando ao controle populacional de *S. frugiperda*.

Palavras-chave: Ecologia comportamental; Comportamento sexual; Interação intra-guilda; Exigências térmicas; Competição; Parasitóides de ovos; Lagarta-do-cartucho

ABSTRACT

Bioecology of *Spodoptera frugiperda* and of its egg parasitoids *Telenomus remus*, *Trichogramma atopovirilia* and *T. pretiosum*

Living beings often influence and are influenced by the environment. Such interactions can directly affect the behavior and survivorship of insects. The aim of this study was to describe the effects of biotic and abiotic factors on the behavior and survivorship of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) and its egg parasitoids *Telenomus remus* Nixon 1937 (Hymenoptera: Scelionidae), *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner 1983, and *T. pretiosum* Riley 1879 (Hym.: Trichogrammatidae). The results showed that adults of *S. frugiperda* perform reproductive activities during well-defined periods of their life, preferably from the beginning until the middle of scotophase. Females of *T. remus* parasitized *S. frugiperda* eggs in both photophase and scotophase. *T. atopovirilia* was the species with the widest temperature range for optimal development, and therefore with a high potential for controlling *S. frugiperda* populations in different temperature conditions. Survivorship and foraging behaviors of *T. remus*, *T. atopovirilia*, and *T. pretiosum* were affected by intra- and/or interspecific competition, with particular effects on each parasitoid species. Intrinsic intraspecific competition affected *T. atopovirilia* survivorship, but did not affect *T. pretiosum* or *T. remus*. Intrinsic interspecific competition affected survivorship of all three parasitoid species. The parasitism sequence and oviposition interval were critical for the result of this competition. Emergence of two *Trichogramma* species from a single multiparasitized host egg was observed. Of the three parasitoid species, *T. atopovirilia* showed the highest likelihood of winning in intrinsic interspecific competition. These results suggest that chemical cues (e.g., pheromones) released by adults of *S. frugiperda* can be used as kairomones by females of *T. remus* during the scotophase, enabling the phenomenon of phoresy. Moreover, temperature and competition affect the survivorship and/or behavior of *T. remus*, *T. atopovirilia* and *T. pretiosum* and should be considered when selecting the species or combination of species for field release to control *S. frugiperda* populations.

Keywords: Behavioral ecology; Sexual behavior; Intraguild interaction; Thermal requirements; Competition; Egg parasitoids; Fall armyworm

1 INTRODUÇÃO

A lagarta-do-cartucho-do-milho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), é um inseto extremamente polífago, associado a mais de 60 espécies de plantas, muitas delas de importância econômica, como milho, algodoeiro, cana-de-açúcar, trigo, aveia, soja, amendoim, batata, batata doce, arroz e hortaliças (LEIDERMAN; SAUER, 1953; BUSATO et al., 2002; FIGUEIREDO; CRUZ; DELLA-LUCIA, 1999). Além de ser considerada a principal praga da cultura do milho no Brasil (BESERRA; PARRA, 2005), *S. frugiperda* compõe, juntamente com *S. eridania* (Cramer, 1782) e *S. cosmioides* (Walk., 1858), um complexo de pragas que requer especial atenção em cultivos de soja e algodão da Bahia e do Mato Grosso (DA SILVA, 2007; PARRA; OMOTO, 2004). Apesar dos prejuízos ao homem e ao meio ambiente, além do alto custo, o controle químico é, frequentemente, a única tática aplicada visando ao controle populacional desta praga (FIGUEIREDO; CRUZ; DELLA-LUCIA, 1999).

A utilização irracional de inseticidas vem acompanhada pela seleção de populações de pragas resistentes. De acordo com (METCALF, 1980), este é o grande desafio em programas de controle de pragas envolvendo o uso de compostos químicos, agravante que o agricultor geralmente tenta contornar – inadequadamente - com o aumento do número de pulverizações, da dose de inseticida aplicada e/ou escolhendo moléculas mais tóxicas. O desenvolvimento da resistência causa maior contaminação ambiental com pesticidas, destruição de inimigos naturais e elevação nos custos de controle da praga (GEORGHIOU, 1983; CROFT, 1990), gerando um ciclo vicioso e tornando o agroecossistema cada vez mais dependente desta tática. Desta forma, está claro que a utilização isolada do controle químico não é a forma mais racional de se controlar *S. frugiperda*, o que sugere a necessidade de se buscarem alternativas que possam estar inseridas num contexto de Manejo Integrado de Pragas (MIP) (FIGUEIREDO; CRUZ; DELLA-LUCIA, 1999). Neste sistema, várias táticas de manejo podem atuar de forma integrada, inclusive o controle biológico, que preconiza a utilização de inimigos naturais das pragas visando a mantê-las em níveis populacionais toleráveis (VILELA et al., 1998).

Dentre os inimigos naturais de *S. frugiperda*, destacam-se os parasitóides de ovos *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner 1983, *T. pretiosum* Riley 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *Telenomus remus* Nixon 1937 (Hym.: Scelionidae) por apresentarem potencial de utilização em programas de controle biológico aplicado da lagarta-do-cartucho (BESERRA; DIAS; PARRA, 2002; BEZERRA; PARRA, 2005; FARIA, 2001; CAVE, 2000; DA SILVA, 2007; FIGUEIREDO; CRUZ; DELLA-LUCIA, 1999). No entanto, antes que isso ocorra, é essencial que se conheçam os aspectos bioecológicos das espécies envolvidas no sistema planta-herbívoro-parasitóides.

A localização de hospedeiros por parasitóides de ovos envolve um complexo de pistas químicas, inclusive aquelas não associadas diretamente ao hospedeiro (ovo), como sinomônios liberados por plantas atacadas e feromônios liberados por herbívoros adultos, o que, neste último caso, é conhecido como espionagem química (FATOUROS et al., 2008). Esta estratégia pode viabilizar o fenômeno da forésia o que, de acordo com Clausen (1976), aumenta as habilidades de dispersão e busca hospedeira, disponibilizando ovos frescos aos parasitóides, sendo este fenômeno mais comum em Scelionidae do que em qualquer outro grupo de parasitóides de ovos.

Pashley, Hammond e Hardy (1992) estudaram o comportamento sexual de duas raças de *S. frugiperda*, uma associada a plantas de arroz e outra a plantas de milho, e constataram diferenças marcantes nos horários de liberação de feromônio, acasalamento e oviposição das duas raças, o que sugere a possibilidade de que diferenças também existam entre os comportamentos de populações nativas de diferentes regiões geográficas. No Brasil, apesar de *S. frugiperda* ser uma espécie bastante estudada, o seu comportamento reprodutivo ainda não foi bem esclarecido, principalmente no que concerne aos seus horários de liberação de feromônio, acasalamento e oviposição. Uma vez que os parasitóides de ovos dependem da oviposição do herbívoro para obterem sucesso reprodutivo, é essencial que se conheça como se processa este fenômeno.

Após a busca, o encontro com um potencial hospedeiro só será interessante caso o parasitóide consiga se desenvolver nele com relativo sucesso, o

que pode ser traduzido em alta velocidade de desenvolvimento e baixa taxa de mortalidade. Sabe-se que estes parâmetros podem variar com a temperatura (BUENO; PARRA; BUENO, 2009; PRATISSOLI; PARRA, 2000; ROSSI, 1997), sendo, portanto, importante que se determine como os parasitóides interagem com este importante fator climático.

Quando se liberam espécies de parasitóides em condições de campo ou casa-de-vegetação visando ao controle de uma praga, é comum que no ambiente de liberação já existam parasitóides residentes, os quais podem competir com os liberados por hospedeiros (MANDOUR et al. 2008; YAMAMOTO et al. 2007; BESERRA; DIAS; PARRA, 2002; PETCHARAT et al., 2002). Semelhante situação pode ocorrer quando duas ou mais espécies de parasitóides são liberadas simultaneamente. Os resultados desta interação podem ir desde sinergismo, quando a combinação de espécies provoca um aumento no controle populacional da praga a até efeitos negativos, quando a combinação provoca um controle inferior ao de uma ou outra espécie isoladamente (FERGUSON; STILING, 1996). Assim, estudos de competição são importantes não só para que se determine o potencial individual de cada espécie, como também para que se determine se há vantagem na liberação de múltiplas espécies. Além disso, este tipo de estudo é crucial para que se possam prever os impactos das espécies liberadas sobre a população de herbívoros (BOGRÁN et al., 2002).

Assim, o objetivo deste trabalho foi descrever aspectos bioecológicos de *S. frugiperda* e de seus parasitóides, *T. remus*, *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*, mediante o estudo do comportamento reprodutivo da praga, das exigências térmicas e do desenvolvimento dos parasitóides em ovos de *S. frugiperda*, e das competições interna e externa entre as três espécies de parasitóides de ovos. Tais informações visam colaborar no planejamento de programas de controle biológico de *S. frugiperda* para estabelecimento de um esquema de controle com parasitóides liberados isoladamente ou associados.

Referências

- BESERRA, E B.; PARRA, J.R.P. Impact of the number of *Spodoptera frugiperda* egg layers on parasitism by *Trichogramma atopovirilia*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, p. 190-193, 2005.
- BESERRA, E.B.; DIAS, C.T.S.; PARRA, J.R.P. Distribution and natural parasitism of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs at different phenological stages of corn. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 85, p. 588-593, 2002.
- BOGRÁN, C.E., HEINZ, K.M.; CIOMPERLIK, M. Interspecific competition among insect parasitoids: field experiments with whiteflies as hosts in cotton. **Ecology**, Ithaca, v. 83, p. 653-668, 2002.
- BUENO, R.C.O.F.; PARRA, J.R.P.; BUENO, A.F. Biological characteristics and thermal requirements of a Brazilian strain of the parasitoid *Trichogramma pretiosum* reared on eggs of *Pseudoplusia includens* and *Anticarsia gemmatilis*. **Biological Control**, San Diego, v. 51, p. 355-361, 2009.
- BUSATO, G.R.; GRÜTZMACHER, A.D.; GARCIA, M.S.; GIOLO, F.P.; MARTINS, A.F. Consumo e utilização de alimento por *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) originária de diferentes regiões do Rio Grande do Sul, das culturas o milho e do arroz irrigado. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, p. 525-529, 2002.
- CAVE, R.D. Biology, ecology and use in pest management of *Telenomus remus*. **Biocontrol News and Information**, Wallingford, v. 21, p. 21-26, 2000.
- CLAUSEN, C.P. Phoresy among entomophagous insects. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 21, p. 343-368, 1976.
- CROFT, B.A. **Arthropod biological control agents and pesticides**. New York: Willey Interscience, 1990. 723 p.
- DA SILVA, C.S.B. **Dispersão do parasitóide de ovos *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) e sua interação com algumas variáveis ambientais em agroecossistemas de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.)**. 2007. 139 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2007.
- FARIA, C.A. de. **Resposta de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) a voláteis de plantas e ovos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)**. 2001. 50 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.

FATOUROS, N.E.; DICKE, M.; MUMM, R.; MEINERS, T.; HILKER, M. Foraging behavior of egg parasitoids exploiting chemical information. **Behavioral Ecology**, Cardiff, v. 19, p. 677-689, 2008.

FERGUSON, K.I.; STILING, P. Non-additive effects of multiple natural enemies on aphid populations. **Oecologia**, Heidelberg, v. 108, p. 375-379, 1996.

FIGUEIREDO, M.L.C.; CRUZ, I.; DELLA LUCIA, T.M.C. Controle integrado de *Spodoptera frugiperda* (Smith & Abbott) utilizando-se o parasitóide *Telenomus remus* Nixon. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, p. 1975-1982, 1999.

GEORGHIOU, G.P. Management of resistance in arthropods. In: GERORGHIOU, G.P.; SAITO, T. (Ed.). **Pest resistance to pesticides**. New York, Plenum, 1983. p. 769-792.

LEIDERMAN, L.; SAUER, H.F.G. A lagarta dos milharais *Laphygma frugiperda* (Abott & Smith, 1797). **O Biológico**, São Paulo, v. 19, p. 105-113, 1953.

MANDOUR, N.S.; MAHMOUD, M.F.; OSMAN, M.A; QIU, B. Efficiency, intrinsic competition and interspecific host discrimination of *Copidosoma desantisi* and *Trichogramma evanescens*, two parasitoids of *Phthorimaea operculella*. **Biocontrol Science and Technology**, New York, v. 18, p. 903-912, 2008.

METCALF, R.L. Changing role of insecticides in crop protection. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 25, p. 219-56, 1980.

PARRA, J.R.P.; OMOTO, C. Cada vez mais terríveis. **Cultivar**, Pelotas, v. 6, p. 18-20, 2004.

PASHLEY, D.P.; HAMMOND, A.M; HARDY, T.N. Reproductive isolating mechanisms in fall armyworm host strains (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of the Entomological Society of America**. Lexington, v. 85, p. 400-405, 1992.

PETCHARAT, J.; LING, Z.; WEIQIU, Z.; ZAIFU, X.; QUISONG, W. Larval parasitoids of agromyzid leafminer genus *Liriomyza* in Southern Thailand: species and their host plants. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**. Bangkok, v. 24, p. 467-472, 2002.

PRATISSOLI, D.; PARRA, J.R.P. Desenvolvimento e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley, criados em duas traças do tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 35, p. 1281-1288, 2000.

ROSSI, M.M. As interrupções de desenvolvimento em *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997. p. 151-172.

VILELA, E.F.; FERNANDES, J.B.; PARRA, J.R.P.; MOSCARDI, F.; RABINOVITCH, L. (Ed.). **Controle biológico e feromônios de insetos no âmbito do agronegócio**. Viçosa: CNPq; EMBRAPA, 1998. 74 p.

YAMAMOTO, D.; HENDERSON, R.; CORLEY, R.; IWABUCHI, K. Intrinsic, inter-specific competition between egg-, egg-larval, and larval parasitoids of plusiine loopers. **Ecological Entomology**. London, v. 32, p. 221-228, 2007.

2 COMPORTAMENTO REPRODUTIVO DE *Spodoptera frugiperda* E RITMO DIÁRIO DE OVIPOSIÇÃO DE *Telenomus remus*

Resumo

Foram descritos os comportamentos reprodutivos de machos e fêmeas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) ao longo de oito escotofases sequenciais; e a capacidade de parasitismo de *Telenomus remus* Nixon 1937 (Hymenoptera: Scelionidae) sobre ovos deste lepidóptero ao longo de uma fotofase e uma escotofase. Adicionalmente, verificaram-se os efeitos da densidade de machos sobre o comportamento de fêmeas de *S. frugiperda* e estudou-se a relação entre idade das fêmeas, viabilidade e coloração dos ovos deste lepidóptero. Os comportamentos de chamamento (extrusão da glândula de feromônio), acasalamento e oviposição de *S. frugiperda* ocorreram com maior frequência, respectivamente, em fêmeas de 1-2, 2, e 3-8 dias de idade. Não observou-se comportamento de chamamento após o acasalamento; mesmo assim, as cópulas continuaram ocorrendo em alguma frequência em fêmeas com mais de dois dias de idade. Os horários (minutos após o início do escuro) de início dos comportamentos de chamamento, acasalamento e oviposição foram, respectivamente, 21, 87 e 126; sendo as suas respectivas durações de 129, 162 e 117 minutos. A presença de dois machos fez com que as fêmeas iniciassem a oviposição mais tarde do que aquelas que compartilharam a gaiola com apenas um macho. Além disto, a segunda cópula ocorreu com um macho diferente daquele da primeira a uma frequência muito maior do que aquela que ocorreu com o mesmo macho, embora não seja possível afirmar se isto foi uma escolha da fêmea ou se foi reflexo de maior empenho de machos virgens com relação aos experientes (não virgens) na corte de fêmeas. Observou-se forte correlação entre fêmeas mais velhas, ovos de cor castanho e taxas elevadas de inviabilidade. Não foram observadas diferenças significativas de parasitismo entre seis horários da escotofase e fotofase, sugerindo que fêmeas de *T. remus* podem também realizar atividades de busca e parasitismo durante a noite.

Palavras-chave: Ritmo circadiano; Fotoperíodo; Parasitoide de ovos; Lagarta-do-cartucho; Feromônio

Abstract

Reproductive behaviors of males and females of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) were described during eight consecutive scotophases; and the potential parasitism of *Telenomus remus* Nixon 1937 (Hymenoptera: Scelionidae) on *S. frugiperda* eggs in both photophase and scotophase was measured. Additionally, the effects of male density on the behavior of *S. frugiperda* females and of female age on egg viability and egg color were determined. The *S. frugiperda* calling behavior (extrusion of pheromone gland), mating and oviposition were more often performed by 1-2, 2, and 3-8 day-old females, respectively. No calling behavior was observed after the first mating, even though females older than 2 days

were mating in some frequency. The starting times (minutes after the light was turned off) of calling behavior, mating and oviposition were, respectively, 21, 87 and 126; and their respective durations were 129, 162 and 117 minutes. Curiously, the presence of two males in a cage affected females, so that they initiated oviposition later than females that shared a cage with only one male. Moreover, the second mating occurred with a different male from that of the first mating much more often than a female mated again with the same male, although it is not possible to state whether it was the female's choice, or the result of better courtship performance of virgin males compared with the experienced (non-virgin) ones. A strong correlation was observed between old females, brownish eggs, and high rates of egg mortality. *T. remus* was able to carry out parasitism in both the photophase and scotophase, suggesting that females of this species are able to search for hosts during the night as well as during the day.

Keywords: Circadian rhythm; Photoperiod; Egg parasitoid; Fall armyworm; Pheromone

2.1 Introdução

A reprodução é considerada uma etapa-chave na sobrevivência de qualquer espécie desde que a teoria da geração espontânea foi descartada pela ciência. Em insetos sexuais, o sucesso reprodutivo envolve várias etapas, que vão desde a localização de parceiros até ao acasalamento e oviposição e, em determinadas espécies, ao cuidado parental.

A localização de parceiros depende das capacidades de comunicação e utilização dos sentidos. Segundo Bento e Parra-Pedrazzoli (2006), diferentemente de outros animais que utilizam principalmente a visão e audição no processo de comunicação, em insetos este fenômeno ocorre primariamente pelo olfato. De acordo com Nation (2002), substâncias voláteis como os feromônios estão constantemente envolvidas no processo de localização de parceiros sexuais e acasalamento, especialmente em Lepidoptera.

O desencadeamento de atividades como locomoção, acasalamento e oviposição estão relacionados a períodos específicos do dia, obedecendo a um determinado padrão (BECK, 1968), também conhecido como ritmo circadiano (TRIPLEHORN; JOHNSON, 2005; SAUNDERS, 2009). Por exemplo, a maioria das

mariposas acasala quando a intensidade de luz é baixa (NATION, 2002), ou seja, durante a noite ou em horários de transição dia/noite/dia.

O horário em que comportamentos reprodutivos de insetos ocorrem pode variar significativamente entre espécies e, inclusive, entre populações de uma mesma espécie. Pashley, Hammond e Hardy (1992) estudaram o comportamento sexual de duas raças de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), uma associada a plantas de arroz e outra a plantas de milho, e constataram diferenças marcantes nos horários de liberação de feromônio, acasalamento e oviposição das duas raças, o que sugere a possibilidade de que diferenças também existam entre os comportamentos de populações nativas de diferentes regiões geográficas. No Brasil, Leiderman e Sauer (1953) relataram que a oviposição de *S. frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) ocorre durante a noite, embora o horário e idade exatos com que esta espécie realiza este e outros comportamentos reprodutivos, como chamamento (extrusão da glândula de feromônio) e acasalamento, ainda não tenha sido bem esclarecido.

A eficiência de parasitoides de ovos está fortemente associada à sua capacidade de detectar semioquímicos liberados por plantas e herbívoros no meio ambiente (VET; DICKE, 1992; LEWIS; MARTIN, 1990). Assim, a identificação do momento e frequência com que a liberação destas substâncias ocorre são de grande importância em estudos de interação de parasitoides de ovos e suas espécies hospedeiras.

Gazit, Lewis e Tumlinson (1996) demonstraram que fêmeas do parasitoide de ovos *Telenomus remus* Nixon 1937 (Hymenoptera: Scelionidae) apresentaram maior sensibilidade a caimônios de ovos de *S. frugiperda* durante as 2,5 primeiras horas da escotofase, quando em comparação com as horas restantes, o que sugere que para esta espécie de parasitoide a localização de hospedeiros também está inserida em seu ritmo circadiano. Além disso, estes mesmos autores referiram a atração de fêmeas de *T. remus* a extratos elaborados a partir de machos e fêmeas de *S. frugiperda*. Nordlund, Lewis e Gueldner (1983) observaram elevação no comportamento de busca hospedeira de *T. remus* como resposta ao feromônio sexual de *S. frugiperda*. Todos estes resultados indicam que fêmeas de *T. remus* podem utilizar a forésia como estratégia na

busca por hospedeiros e, segundo Clausen (1976) este fenômeno eleva as habilidades de busca e dispersão e viabiliza o encontro com ovos recém-colocados, sendo uma estratégia mais comum em Scelionidae do que em qualquer outro grupo de parasitoides de ovos. Contudo, parece lógico que fêmeas foréticas sejam também capazes de realizar parasitismo durante a noite, já que é neste momento que se dará o encontro com hospedeiros mais jovens. Dados a respeito do parasitismo de *T. remus* ao longo da fotofase ou da escotofase ainda são inexistentes, apesar de serem de grande importância para o entendimento de como esta espécie interage com *S. frugiperda*, bem como para a elaboração de técnicas de liberação.

Assim, o objetivo deste trabalho foi descrever os aspectos reprodutivos de *S. frugiperda* ao longo de sua vida e determinar a capacidade de parasitismo de *T. remus* ao longo do período de luz (fotofase) e escuro (escotofase).

2.2 Material e métodos

2.2.1 Insetos

2.2.1.1 *S. frugiperda*

Uma criação de *S. frugiperda* foi mantida em laboratório ($24\pm 1^\circ\text{C}$, UR de 70%, fotoperíodo 14L:10E) a partir de uma população coletada em campo, conforme descrição a seguir.

Plantas de milho (de aproximadamente 30 dias pós-emergência) foram coletadas em um milharal atacado pela lagarta-do-cartucho-do-milho, instalado no campus da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ) da Universidade de São Paulo (USP). Em laboratório, as lagartas foram coletadas a partir das folhas e colmo das plantas. Os exemplares coletados foram alimentados com a dieta artificial proposta por Greene, Leppla e Dickerson (1976), de acordo com a metodologia proposta por Parra (2001).

A partir de F_1 , o método de criação de imaturos foi modificado, visando à praticidade e diminuição do espaço e tempo gastos com a manutenção dos insetos. O novo método consistiu em alojar 40 lagartas de segundo ínstar (aproximadamente 4-5 dias de idade) em recipientes retangulares (4cm de altura x 15cm largura x 21cm de comprimento) contendo 200ml de dieta artificial. Os recipientes foram empilhados,

fechando-se mutuamente, com exceção do recipiente localizado na extremidade superior da pilha, ao qual foi ajustada uma tampa (Figura 2.1). A forma hermética como os recipientes foram fechados acabou gerando um excesso de umidade e condensação em seus interiores (Figura 2.1), facilitando o desenvolvimento de microorganismos entomopatogênicos. Todavia, uma diminuição de 11% no conteúdo de água proposto por Greene, Leppla e Dickerson (1976) praticamente eliminou estes problemas. A utilização deste método permitiu, ao final do desenvolvimento das lagartas, a obtenção de $36,3 \pm 0,4$ pupas por recipiente ($n=44$), o que se traduziu em uma viabilidade larval de aproximadamente 90%.

Para a observação do comportamento foram utilizados indivíduos da geração F_{12} desta população. As pupas foram separadas por sexo, alojadas em tubos de PVC (21 cm de altura x 10 cm de diâmetro) internamente revestidos com papel sulfite e fechados em ambas as extremidades com placas de Petri (1,3 x 14,5cm). Os tubos foram mantidos em câmara climatizada ($24 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de 70%, fotoperíodo 14L:10E) até a emergência dos adultos.

Os adultos de *S. frugiperda* emergiram em maior frequência durante a escotofase, sendo que as fêmeas antecederam os machos em 24 horas. Desta forma, neste estudo, utilizaram-se machos de zero a 12 e fêmeas de 24 a 36 horas pós-emergência.

2.2.1.2 *T. remus*

Foram utilizadas fêmeas recém emergidas de *T. remus* criadas sobre ovos de *S. frugiperda* em condições de laboratório ($24 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de 70%, fotoperíodo 14L:10E). As fêmeas foram alimentadas com mel de abelhas puro e não tiveram experiência de oviposição (“naive”).



Figura 2.1 - Recipientes plásticos (4 x 15 x 21 cm) utilizados para criação de lagartas de *Spodoptera frugiperda* em condições de laboratório. (a) vista superior do recipiente contendo dieta artificial e lagartas de quinto ínstar de *S. frugiperda*; (b) vista inferior do recipiente mostrando pré-pupas; (c) tampa do recipiente contendo gotas de água acumuladas por condensação em sua face interior; (d) empilhamento e fechamento dos recipientes de criação, visando à economia de espaço

2.2.2 Gaiolas

Gaiolas cilíndricas (10cm de altura x 10cm diâmetro) foram confeccionadas com tubos de policloreto de vinila (PVC) e placas de Petri (1,3 x 14,5cm) (Figura 2.2). Cada gaiola foi revestida internamente com papel sulfite branco, preso com fita adesiva; em seu interior foi colocada uma fonte de hidratação para os insetos, formada por um copo de acrílico (3,5cm de altura x 2,7cm de diâmetro) contendo água destilada, na qual um rolo de algodão hidrófilo, sustentado por um disco plástico (2,7cm de diâmetro), foi parcialmente imerso (Figura 2.3). A extremidade emersa do algodão foi colocada em contato com a área central (aproximadamente 7cm²) de um disco de papel de filtro (10cm de diâmetro), delimitada, seis horas antes, por uma solução de cola branca e água (9:1), que preencheu os espaços entre as fibras do papel, impedindo a dispersão da água por todo o disco (Figura 2.4). A utilização do disco de papel visou evitar o

contato de fêmeas de *S. frugiperda* com o copo plástico utilizado na confecção da fonte hidratante que, exposto, poderia ser usado como sítio de oviposição, dificultando o manuseio e posterior contagem dos ovos.



Figura 2.2 - Gaiola (10cm de altura x 10cm diâmetro) para manutenção de adultos de *Spodoptera frugiperda*, visando aos estudos do comportamento reprodutivo desta espécie em laboratório ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR de 70%, fotoperíodo 14L:10E)

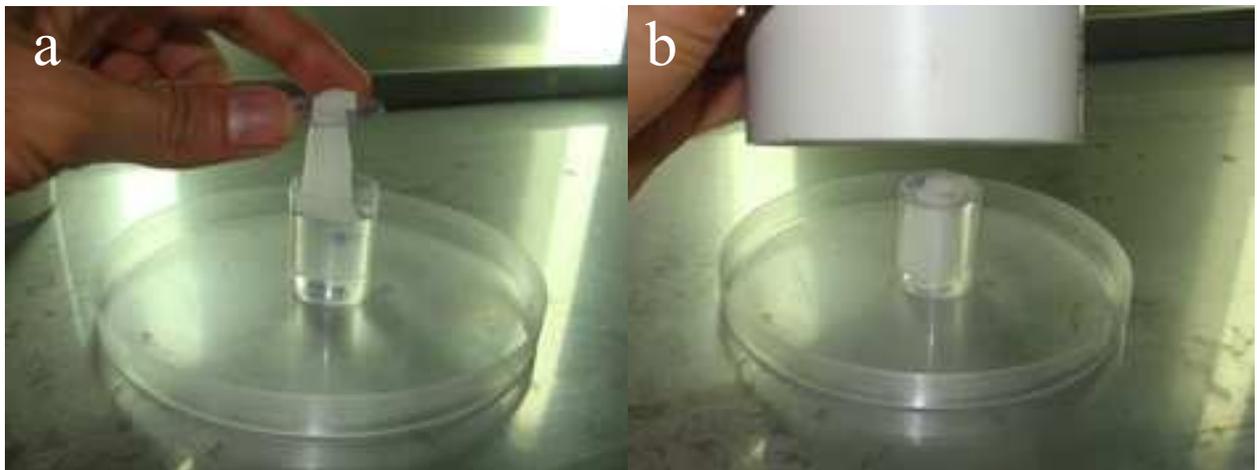


Figura 2.3 - Fonte de hidratação dos insetos: (a) rolo de algodão hidrófilo sustentado por um disco plástico (2,7 cm de diâmetro) sendo inserido num copo de acrílico (3,5 x 2,7 cm) contendo água destilada . O conjunto foi disposto no centro de uma placa de Petri (1,3 x 14,5 cm), que serviu como base da gaiola; (b) fonte de hidratação em sua configuração final sendo recoberta pelo tubo de PVC, constituindo partes de uma gaiola para alojamento de adultos de *Spodoptera frugiperda*, visando aos estudos de seu comportamento reprodutivo em laboratório ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR de 70%, fotoperíodo 14L:10E)

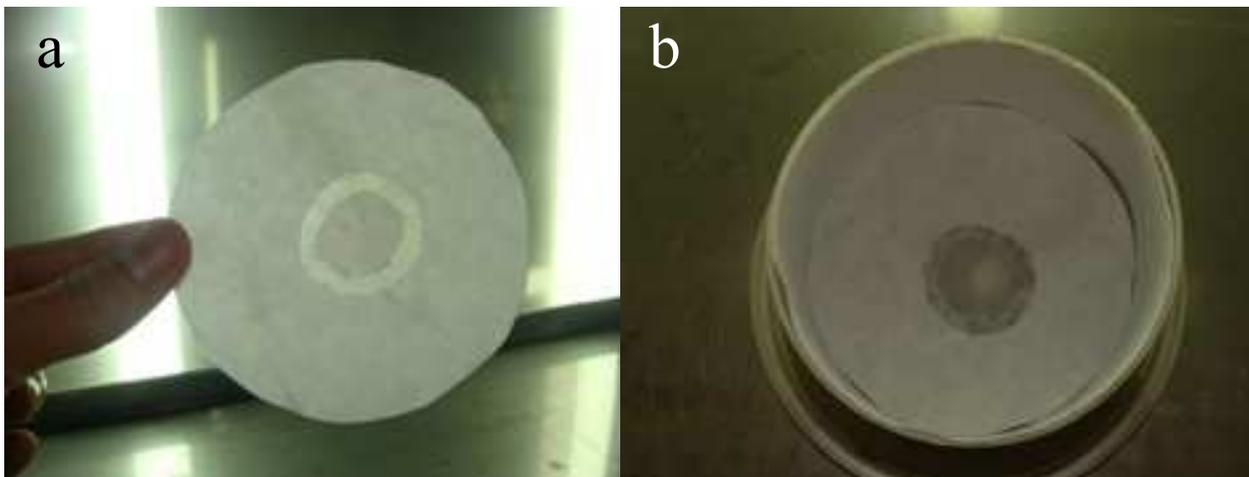


Figura 2.4 - (a) disco de papel de filtro (10cm de diâmetro) com sua área central (aproximadamente 7 cm²) delimitada, seis horas antes, por um anel de cola branca; (b) visão do interior da gaiola de manutenção de adultos de *Spodoptera frugiperda*, exibindo o disco de papel de filtro em sua configuração final, sustentado pelas paredes da gaiola e em contato, na região central de sua face inferior, com a fonte de hidratação. A região escura (central) do papel de filtro compreendeu o local disponível para sucção de água pelos insetos

2.2.3 Observação do comportamento de *S. frugiperda*

Em cada gaiola foram colocados ou um casal (n=40) ou uma fêmea e dois machos (trios) (n=15) de *S. frugiperda*. Neste último caso, um dos machos de cada gaiola foi marcado na sua região torácica com pigmento vermelho. A marcação foi realizada utilizando-se caneta Uni Posca® (Mitsubishi Pencil Co., Ltd., Japão) (Figura 2.5), após remoção parcial das escamas da superfície torácica superior dos machos. O pigmento é inodoro e de secagem rápida.



Figura 2.5 - Caneta utilizada para marcação de machos de *Spodoptera frugiperda*. (Uni Posca®, Mitsubishi Pencil Co., Ltd., Japão)

As gaiolas foram mantidas em câmara climatizada regulada a $24\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR de $70\pm 10\%$ e fotoperíodo de 14L:10E (Figura 2.6). Utilizando-se lanterna com luz vermelha, os insetos foram observados por oito escotofases, a partir da formação dos casais/trios. As observações iniciaram-se sempre quinze minutos antes do início da escotofase e se estenderam até o seu término, sendo realizadas a intervalos de 15 minutos. Foram registrados os horários de início e fim dos comportamentos de (1) chamamento (extrusão da glândula de feromônio); (2) acasalamento; e (3) oviposição. Também foram registrados os comportamentos de machos e fêmeas antes, durante e após estes eventos. Nas gaiolas com três indivíduos, foi registrado o momento em que cada macho (marcado e não marcado) acasalou.



Figura 2.6 - Distribuição das gaiolas contendo adultos de *Spodoptera frugiperda* em prateleiras no interior de câmara climatizada ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR de 70%, fotoperíodo 14L:10E), visando ao estudo de comportamento reprodutivo desta espécie

2.2.4 Quantidade, coloração e viabilidade dos ovos

Diariamente foram realizadas coleta de ovos e revisão das fontes de hidratação, as quais foram substituídas sempre que necessário. As massas de ovos foram fotografadas em um scanner (HP Photosmart C4780[®]) e as imagens digitalizadas

foram utilizadas para contagem dos ovos no programa para medições Leica Application Suite versão 3.0 (Leica®). Para cada postura foi avaliada a coloração. NALIM (1991) observou que a coloração de ovos de *S. frugiperda* pode variar bastante, chegando a classificá-las em 24 diferentes cores. No presente trabalho, contudo, em observações preliminares de massas de ovos (n=273) colocadas por 60 fêmeas de *S. frugiperda* durante toda sua vida, observou-se que menos de 1% dos ovos (apenas duas massas) apresentaram coloração verde, sendo o restante de cor ou cinza ou castanho ou tons variantes destas cores (Figura 2.7). Assim, as massas de ovos foram classificadas apenas nos padrões ou “cinza” ou “castanho”, sendo as “verde” excluídas do estudo.

Após a digitalização, todas as massas de ovos foram mantidas em uma segunda câmara climatizada ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR de $70\pm 10\%$, fotoperíodo de 14L:10E) até a eclosão das lagartas de *S. frugiperda*. Após este fenômeno, contaram-se os ovos inviáveis (que não originaram lagartas).

Com o objetivo de detectar potenciais correlações entre a “cor dos ovos”, “idade das fêmeas” e “percentagem de ovos inviáveis”, os dados referentes a estas variáveis foram submetidos à Análise de Correspondência Múltipla (ACM). De acordo com Ferraudo¹, a ACM é uma poderosa ferramenta desenvolvida através de combinações de métodos multivariados composicionais aplicada estritamente a dados categóricos. É uma abordagem composicional de fácil interpretação e pode ser classificada no conjunto de técnicas associadas a mapas perceptuais/intuitivos. Permite ao analista visualizar, como em um mapa geográfico, as proximidades (similaridades ou dissimilaridades) entre os estímulos propostos no trabalho de pesquisa.

¹ FERRAUDO, A.S. **Técnicas de análise multivariada**. 15 p. Apostila distribuída no Curso de Análise Exploratória de dados (Análise Multivariada), realizado no período de 24 de agosto a 30 de setembro de 2006, na FCAV/UNESP.

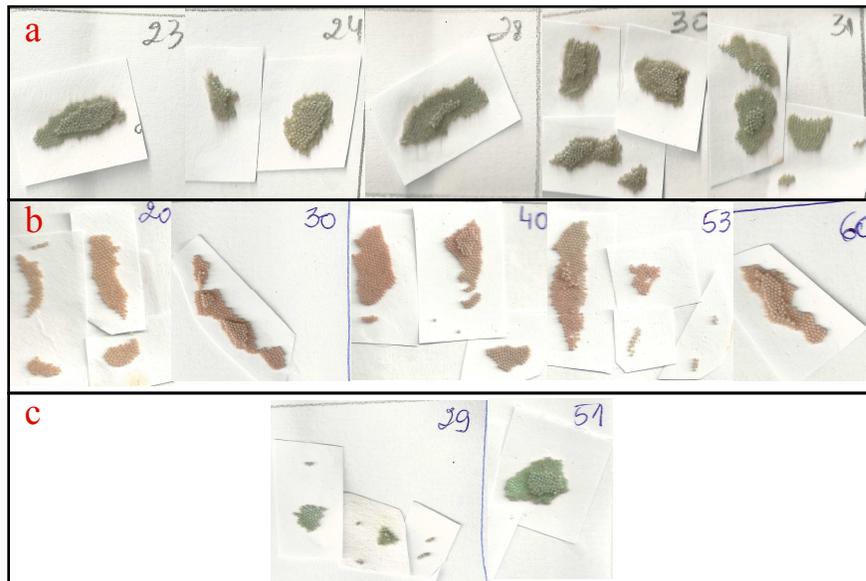


Figura 2.7 - Padrões de cor de posturas (<10h) de *Spodoptera frugiperda* - (a) padrão “cinza”; (b) padrão “castanho”; (c) padrão “verde” - a partir de uma população criada em dieta artificial em condições de laboratório ($24\pm 1^\circ\text{C}$, UR de $70\pm 10\%$, 14L:10E)

2.3.5 Ritmo de oviposição de *T. remus*

Fêmeas de *T. remus* foram individualizadas em tubos de vidro (7 x 1,2 cm) contendo uma cartela de aproximadamente 100 ovos de *S. frugiperda* recém-colocados. Os tubos foram fechados com filme de PVC e acondicionados em câmara climatizada ($25\pm 1^\circ\text{C}$, com 14h de fotofase), respectivamente no início, meio e final de cada fase, correspondentes a 1, 7 e 14h da fotofase e 1, 5 e 10h da escotofase. Depois de uma hora, as fêmeas foram removidas e os hospedeiros submetidos ao parasitismo permaneceram na câmara até a emergência da prole, quando registrou-se o número de adultos emergidos. Para cada horário foram testadas 20 fêmeas. Após confirmação da normalidade e homocedasticidade, os dados foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste LSD.

2.3 Resultados

2.3.1 Comportamento reprodutivo de *S. frugiperda*

Para fêmeas desta espécie, os períodos de maior ocorrência dos comportamentos de chamamento (extrusão da glândula de feromônio), acasalamento e

oviposição não se sobrepuseram, o que significa que em cada escotofase as fêmeas alocam a sua energia preferencialmente para uma determinada atividade (Figura 2.8).

Logo após o início do período escuro, machos e fêmeas de *S. frugiperda* eriçaram as antenas e puseram-se a vibra-las. Alguns machos também vibraram as asas. Aproximadamente 20 minutos após o início da escotofase, as fêmeas realizaram a extrusão da glândula de feromônio e, acompanhando este fenômeno, trouxeram o terceiro par de pernas junto ao corpo, elevando o abdome e batendo as asas em curtos, porém frequentes, movimentos de sobe e desce, sem descobrir o abdome. Os machos, quando sexualmente maduros, responderam expandindo periodicamente as valvas e aproximando-se das fêmeas, colocando-se em posição perpendicular a elas. A partir daí tocaram, com as antenas, o tórax e asas das parceiras por alguns instantes, e na sequência se colocaram em posição lateral, de forma que ambos ficaram com a cabeça voltada para a mesma direção. O macho então, batendo as asas, exibia o seu tufo de pêlos e curvava a ponta de seu abdome em direção ao ápice abdominal da fêmea, que na ocasião ou permanecia receptiva mantendo as asas e abdome elevados e a cópula era efetuada, ou movimentava-se distanciando-se do macho, que reiniciava todo o processo de corte (Figura 2.9).

O comportamento de chamamento ocorreu exclusivamente em fêmeas de um (98%) e dois (46,5%) dias de idade (Kruskal-Wallis, $p=0,0003$), não observando-se diferenças significativas entre as duas (Dunn, $p>0,05$). A maior frequência de acasalamento foi observada em fêmeas de dois dias de idade (ANOVA, $p<0,0001$), embora este comportamento tenha sido constatado em menor frequência também em fêmeas mais velhas. A oviposição foi, indubitavelmente, a atividade que mais se repetiu ao longo dos oito dias de observação, acontecendo em sete deles; contudo, as maiores frequências para este comportamento foram constatadas no terceiro, quarto e quinto dias (ANOVA, $p<0,0001$) (Figura 2.8).

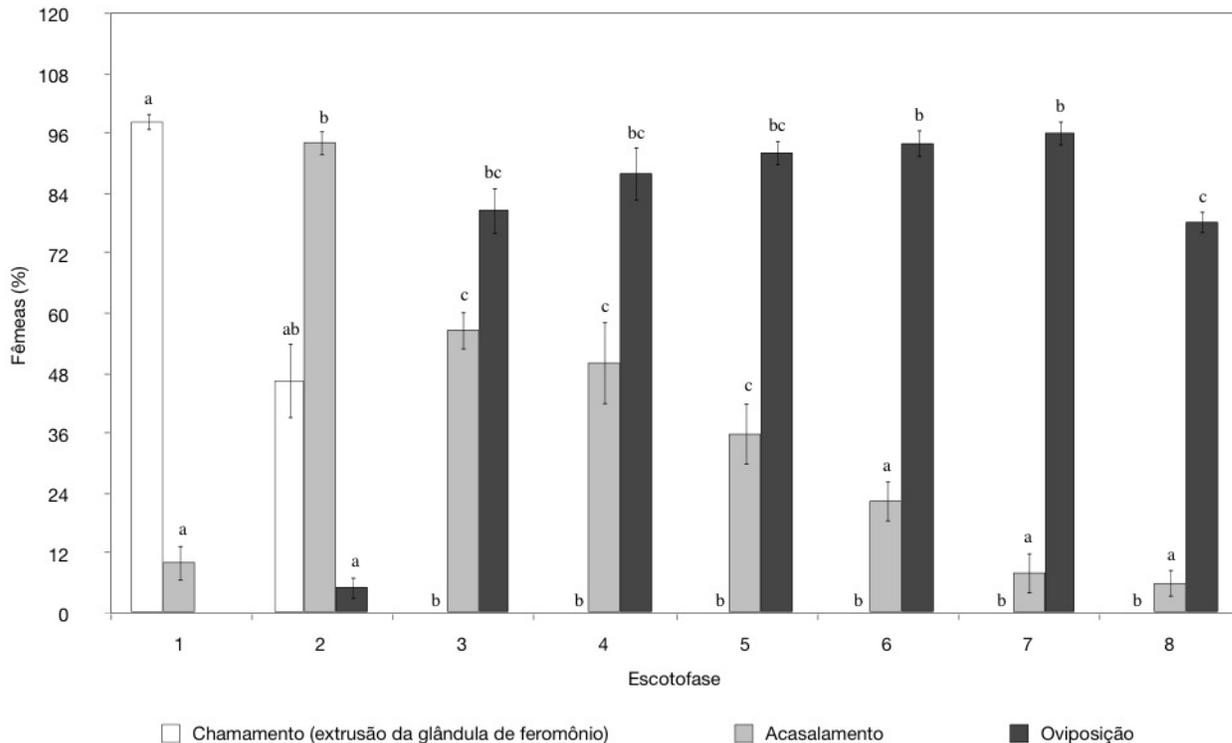


Figura 2.8 - Percentagem de fêmeas de *Spodoptera frugiperda* em comportamentos de chamamento (extrusão da glândula de feromônio), acasalamento e oviposição, ao longo de oito dias (escotofases), em condições de laboratório ($24\pm 1^\circ\text{C}$, UR de $70\pm 10\%$, fotoperíodo de 14L:10E). Letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (chamamento: Kruskal-Wallis, $p=0,0003$; acasalamento: ANOVA, $p<0,0001$; oviposição: ANOVA, $p<0,0001$); comparações somente entre colunas de mesma cor

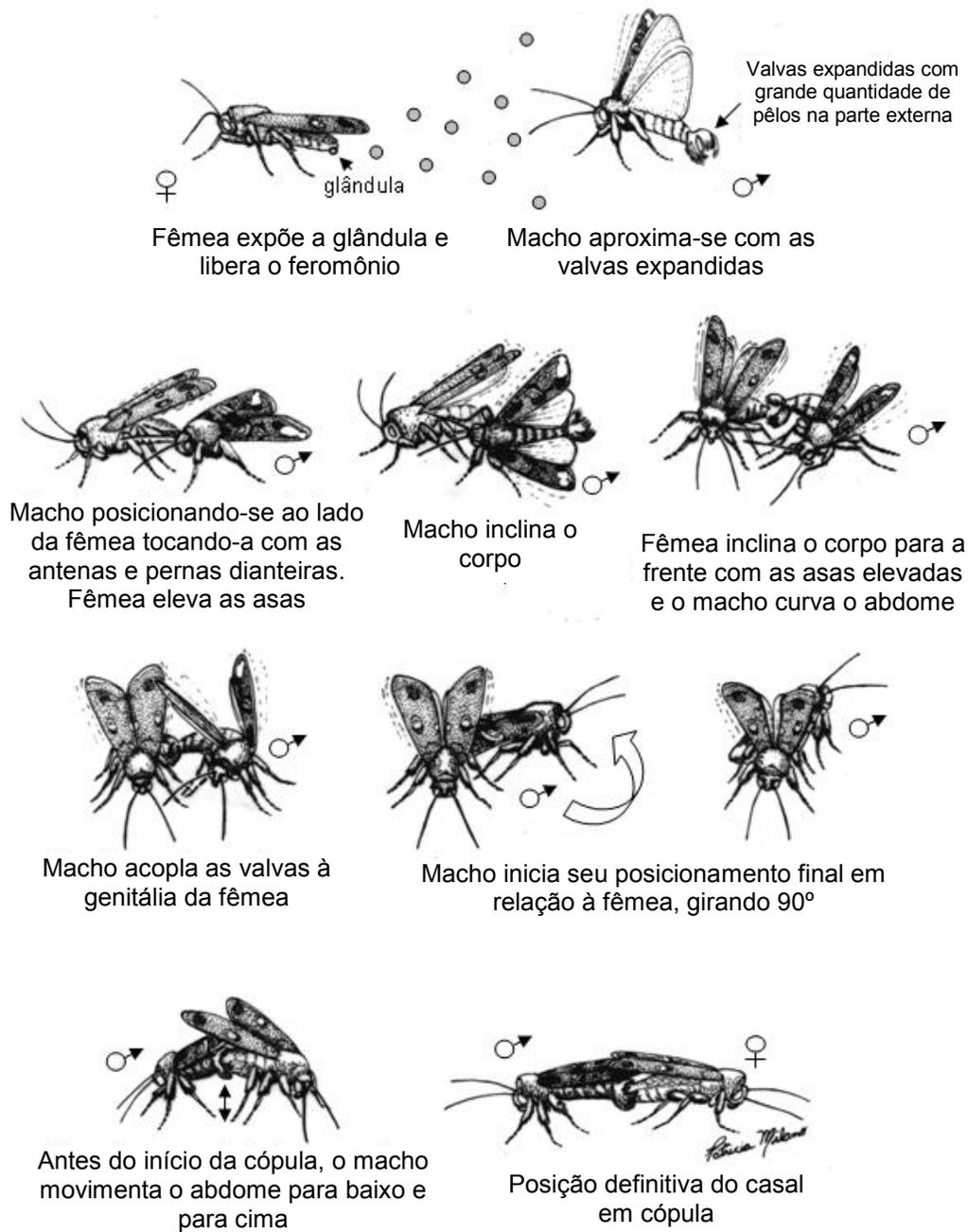


Figura 2.9 - Comportamento reprodutivo de machos e fêmeas de *Spodoptera frugiperda* em condições de laboratório ($24 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$, fotoperíodo de 14L:10E)

Nas gaiolas com dois machos, 13 das 15 fêmeas copularam mais do que uma vez. Entre estas fêmeas, na segunda vez que copularam, quatro delas acasalaram com o mesmo macho com o qual já haviam acasalado anteriormente, enquanto as nove demais acasalaram com machos diferentes (Figura 2.10).

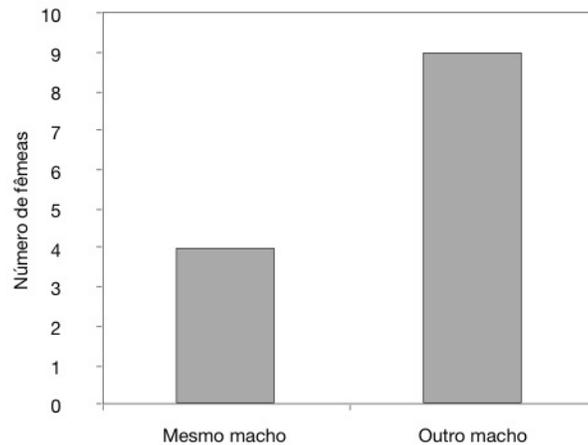


Figura 2.10 - Número de fêmeas que na primeira re-cópula acasalaram com o “mesmo macho” com o qual já haviam acasalado, e com o “outro macho” com o qual ainda não haviam acasalado

Na presença de um macho por gaiola, as fêmeas iniciaram os comportamentos de chamamento, acasalamento e oviposição, respectivamente, 21, 87 e 126 minutos após o início da escotofase (Figura 2.11). A densidade de machos por gaiola não afetou o horário de início dos comportamentos de chamamento (ANOVA, $p=0,26$) nem de acasalamento (ANOVA, $p=0,70$). Contudo, na presença de dois machos o início da oviposição foi retardado significativamente em aproximadamente 40 minutos, com relação às gaiolas com apenas um macho (ANOVA, $p=0,029$) (Figura 2.11).

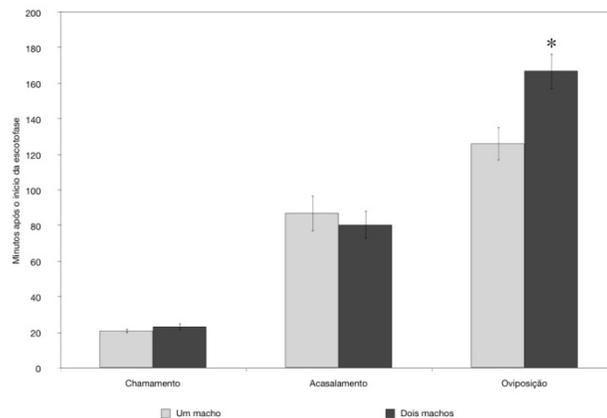


Figura 2.11 - Tempo (minutos após o início da escotofase) necessário para que se iniciem os comportamentos de chamamento, acasalamento e oviposição de fêmeas de *Spodoptera frugiperda* em gaiolas contendo um ou dois machos ($24\pm 1^\circ\text{C}$, UR de $70\pm 10\%$, fotoperíodo invertido de 14L:10E). Asterisco indica diferença significativa entre os tratamentos (ANOVA, $p=0,029$)

Não observaram-se diferenças significativas nas durações dos comportamentos de chamamento (Kruskal-Wallis, $p=0,051$), acasalamento (ANOVA, $p=0,12$) e oviposição (ANOVA, $p=0,30$) entre fêmeas com um e dois machos. Em gaiolas com apenas um macho, estes comportamentos duraram, respectivamente, 129, 162 e 118 minutos (Figura 2.12).

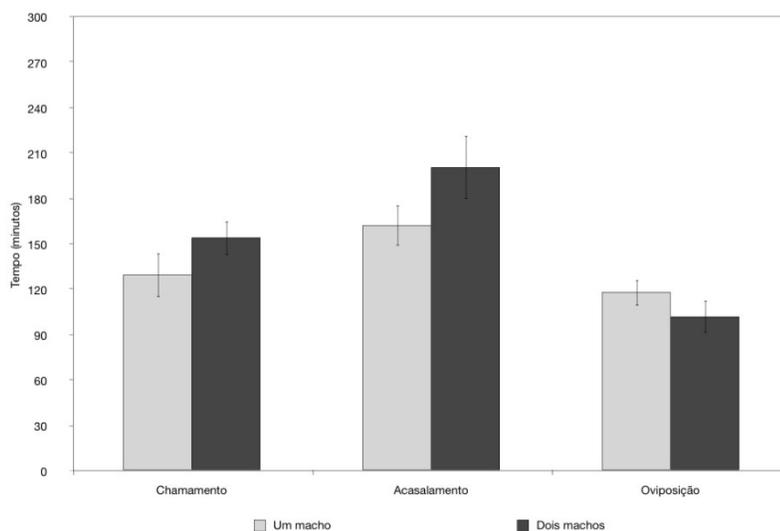


Figura 2.12 - Duração (minutos) dos comportamentos de chamamento, acasalamento e oviposição de fêmeas de *Spodoptera frugiperda*, em gaiolas contendo um ou dois machos ($24\pm 1^\circ\text{C}$, UR de $70\pm 10\%$, fotoperíodo de 14L:10E). Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos (ANOVA ou Kruskal-Wallis, $p>0,05$)

O comportamento de chamamento ocorreu com maior frequência entre o início e a sexta hora da escotofase, em fêmeas com um (Kruskal-Wallis, $p < 0,0001$) e dois (Kruskal-Wallis, $p = 0,027$) dias de idade (Figura 2.13).

No segundo dia de observação, o acasalamento ocorreu exclusivamente desde a primeira até a oitava hora (Figura 2.13), enquanto nos dias 3 e 4, apesar deste comportamento ter se estendido até a oitava hora como no primeiro dia, ele foi muito mais frequente nas sete primeiras horas (Kruskal-Wallis, $p < 0,0001$) (Figura 2.13).

Os horários-pico de oviposição variaram bastante ao longo da vida das fêmeas de *S. frugiperda*. Em fêmeas de três dias de idade (dia 3) a maior frequência de oviposição foi constatada entre o início à quarta hora da escotofase (Kruskal-Wallis, $p < 0,0001$) (Figura 2.13), enquanto nas escotofases 4 e 5, os picos ocorreram, respectivamente, entre o início e oito horas (Kruskal-Wallis, $p < 0,0001$) (Figura 2.13); e entre três e cinco horas a partir do início do escuro (Kruskal-Wallis, $p < 0,0001$) (Figura 2.13).

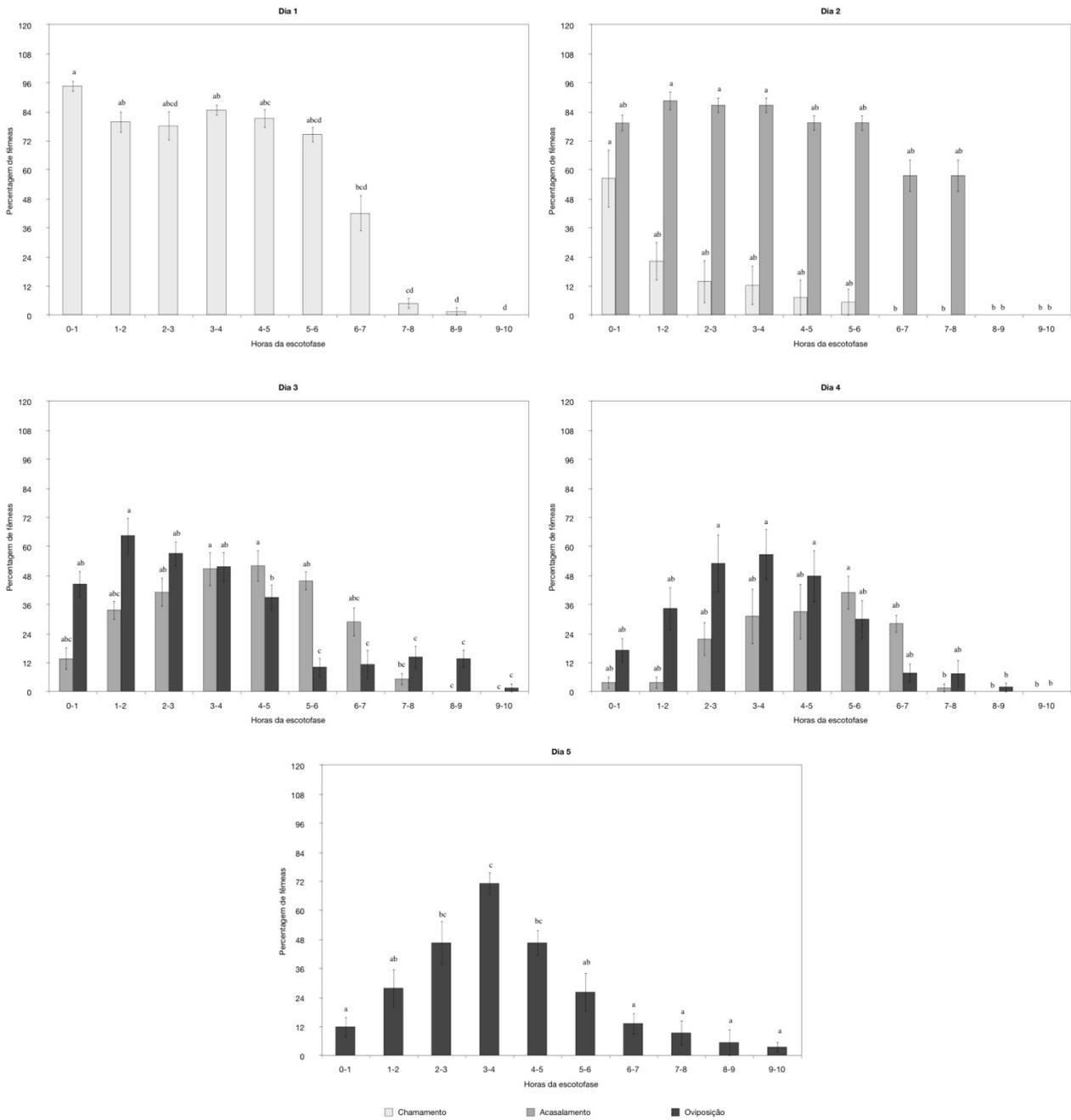


Figura 2.13 - Percentagem de fêmeas de *Spodoptera frugiperda* realizando comportamentos de chamamento, acasalamento e oviposição ao longo da escotofase nos cinco primeiros dias de observação, em condições de laboratório (24±1°C, UR de 70±10%, fotoperíodo de 14L:10E). Letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (Dia 1 - Kruskal-Wallis, p<0,0001; Dia 2 - chamamento: Kruskal-Wallis, p=0,027, acasalamento: Kruskal-Wallis, p<0,0001; Dia 3 - acasalamento e oviposição: Kruskal-Wallis, p<0,0001; Dia 4 - acasalamento e oviposição: Kruskal-Wallis, p<0,0001; Dia 5 - Kruskal-Wallis, p<0,0001)

2.3.2 Quantidade, coloração e viabilidade dos ovos

Fêmeas em gaiolas com um e dois machos colocaram, respectivamente, 1713,5 e 1694,8 ovos ao longo de sua vida, valores que não diferenciaram significativamente entre si (Kruskal-Wallis, $p < 0,0001$) (Figura 2.14). As maiores quantidades de ovos foram colocadas nos três primeiros dias de oviposição, ou seja, por fêmeas de três, quatro e cinco dias de idade.

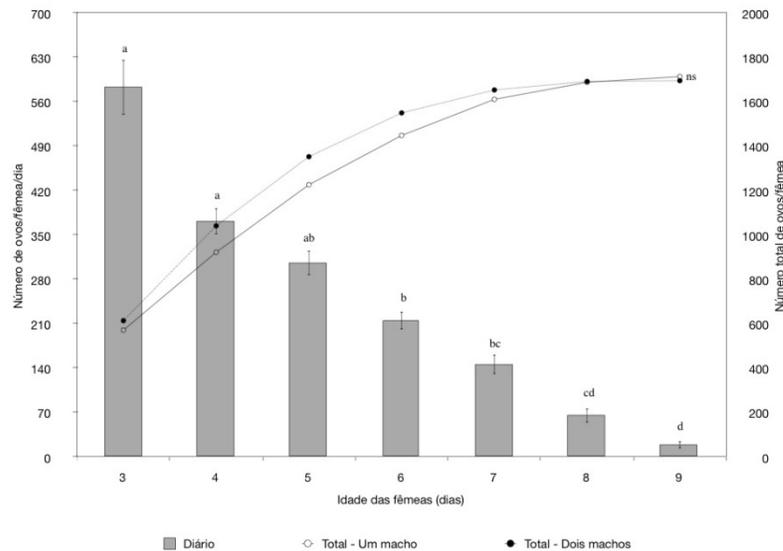


Figura 2.14 - Número diário e total de ovos colocados por fêmea de *Spodoptera frugiperda* ao longo de sua vida, em condições de laboratório ($24 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$, fotoperíodo invertido de 14L:10E). As linhas representam os valores de fêmeas em gaiolas com um ou dois machos; as colunas representam a média diária de fêmeas com ambas as densidades de machos. Letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (Kruskal-Wallis, $p < 0,0001$)

Fêmeas de três dias de idade estiveram fortemente correlacionadas aos ovos de padrão “cinza” e fracamente à “inviabilidade superior a 10%”. Em contrapartida, observou-se elevada associação entre ovos “castanho”, fêmeas de 4, 5, 6, 7 e 8 dias de idade e os dois níveis de inviabilidade (“entre 0 e 10% e “superior a 10%”) (Figura 2.15).

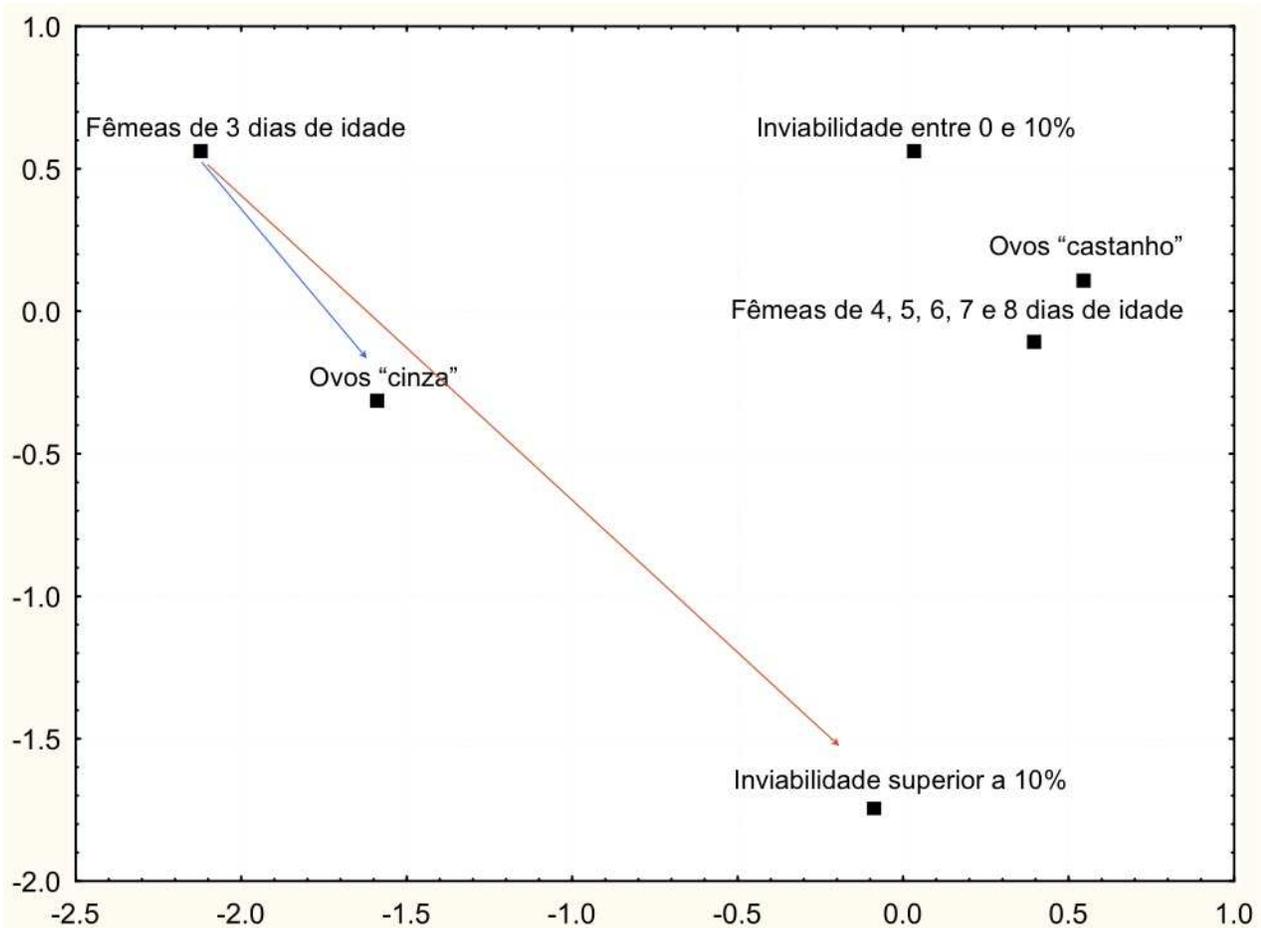


Figura 2.15 - Mapa perceptual da Análise de Correspondência Múltipla envolvendo as variáveis “escotofase”, “padrão de cor dos ovos” e “inviabilidade”. No eixo das abcissas, a maior contribuição à inércia foi dada pela variável “escotofase” (57,2%); no eixo das ordenadas, a maior contribuição foi do fator “inviabilidade” (35,7); juntos, os dois fatores contribuíram com aproximadamente 93% da inércia total

2.3.3 Ritmo de oviposição de *T. remus*

O número médio de hospedeiros parasitados foi 30, 33,5 e 32 respectivamente para as horas 1, 7 e 14 da fotofase; e 26,1, 18,4 e 20,4 respectivamente para as horas 1, 5 e 10 da escotofase (Figura 2.20). Apesar de não haver diferenças significativas no número de hospedeiros parasitados entre os seis períodos estudados (ANOVA, $p=18,09$), pôde-se observar que mais hospedeiros foram parasitados durante a fotofase (31,9), quando comparados com a escotofase (21,6) (ANOVA, $p=0,023$) (Figura 2.16).

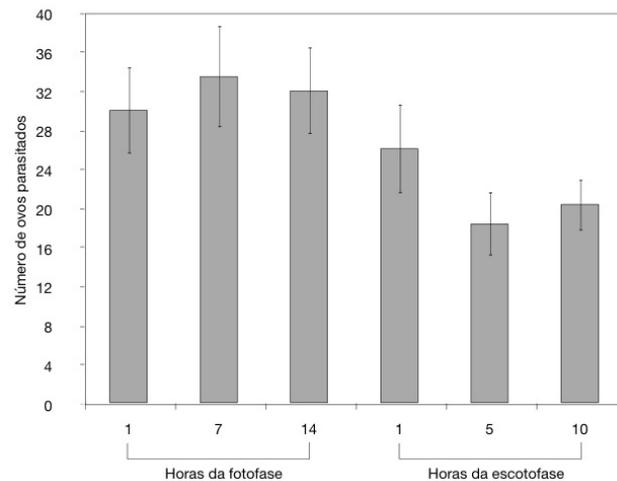


Figura 2.16 - Parasitismo de *Telenomus remus* Nixon sobre ovos de *Spodoptera frugiperda* ao longo da fotofase e escotofase ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR 70% e fotoperíodo 14L:10E). Não foram constatadas diferenças significativas entre os tratamentos (ANOVA, $p=18,09$)

2.4 Discussão

Fêmeas de *S. frugiperda* apresentaram períodos bem definidos para a realização dos comportamentos de chamamento, acasalamento e oviposição, ao longo de sua vida adulta, sendo a oviposição a atividade que se repetiu em frequências elevadas por maior número de dias, constituindo, portanto, a atividade prioritária de fêmeas já acasaladas.

Os adultos de *S. frugiperda* utilizados neste trabalho emergiram durante o período de escotofase, e durante as horas que se seguiram em escuridão nenhum comportamento que pudesse ser caracterizado como reprodutivo foi observado. A primeira liberação feminina de feromônio sexual ocorreu no período de 24 a 36h após sua emergência, ou seja, na escotofase seguinte. De acordo com Blomquist e Vogt (2003), a produção e liberação de feromônios sexuais está relacionada à maturação sexual, o que indica que as fêmeas de *S. frugiperda* emergem sexualmente imaturas, alcançando esta maturidade aproximadamente um dia após a sua emergência.

Fêmeas de *S. frugiperda* iniciaram o comportamento de chamamento 20 minutos após o início da escotofase, resultados que diferem bastante dos encontrados na raça “milho” desta espécie na Florida (EUA), onde o chamamento só iniciou-se 2,5h após o apagar das luzes (PASHLEY; HAMMOND; HARDY, 1992). Estes resultados

sugerem que raças “milho” de diferentes regiões são geneticamente diferentes, constituindo-se em linhagens distintas.

Neste trabalho, os machos não responderam ao comportamento de chamamento das fêmeas durante a primeira escotofase, o que aconteceu somente a partir da segunda, indicando que, assim como as fêmeas, os machos só alcançam a maturidade sexual 24h após a sua emergência. Talvez por este motivo, o comportamento de chamamento ocorreu em duas escotofases seguidas, já que na primeira não haviam machos sexualmente maduros disponíveis, não viabilizando a ocorrência de acasalamento. Após o acasalamento, a partir da segunda escotofase, o comportamento de chamamento não foi mais praticado pelas fêmeas, o que sugere que em condições naturais de campo, ao contrário dos resultados aqui apresentados, o comportamento de chamamento só ocorra em uma única escotofase ou até que as fêmeas acasalem.

De forma análoga, o acasalamento foi observado em alguma frequência em todas as escotofases, mesmo naquelas onde não houve chamamento. A não realização do comportamento de chamamento pode ser um indício de que a fêmea não está mais interessada em copular e em condições de campo, isto pode dificultar muito o encontro entre adultos dos dois sexos, o que diminuiria ou até anularia as probabilidades de realização de mais de uma cópula. Assim, as condições em que o estudo foi realizado, onde os machos não tinham necessidade de seguir as pistas químicas das fêmeas para poder encontrá-las, e as fêmeas não tinham como se distanciar dos machos, pode ter favorecido fortemente a frequência de acasalamento de fêmeas já acasaladas. Há necessidade de mais estudos para que se determine o porquê de fêmeas já acasaladas e que, provavelmente, não necessitam mais acasalar (já que não realizam mais comportamento de chamamento), cederem ao assédio dos machos acasalando em vários dias.

Alguns pesquisadores têm especulado a respeito da aplicabilidade da Técnica do Inseto Estéril (TIE) para controle populacional de *S. frugiperda* (KNIPLING, 1970; CARPENTER et al., 1983; ARTHUR; AGUILAR; ARTHUR, 2002). Porém, uma das premissas para que esta técnica funcione, é que as fêmeas da espécie acasalem apenas uma vez em sua vida (KNIPLING, 1955), o que não é verdadeiro para *S.*

frugiperda em condições de laboratório; e este tem sido o argumento de pesquisadores que não apoiam a utilização da TIE para esta espécie. Porém, este argumento pode ser invalidado diante dos dados apresentados neste trabalho, os quais revelam que as fêmeas já acasaladas de *S. frugiperda* não realizam comportamento de chamamento de machos, diminuindo ou anulando a probabilidade de realização de mais de uma cópula em condições de campo. Assim, há necessidade de realização de estudos para verificar se fêmeas de *S. frugiperda* já acasaladas são procuradas por machos em condições de campo. A confirmação da não atratividade de fêmeas já acasaladas poderá levantar mais uma vez a possibilidade de utilização da TIE em *S. frugiperda*, tal como já acontece com *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae) (JUDD; GARDINER; THISTLEWOOD, 2004). Obviamente, para que isto ocorra, um método que viabilize a criação de milhões de indivíduos de *S. frugiperda* deverá ser desenvolvido. De acordo com Klassen e Curtis (2005), a criação massal de lepidópteros tem sido mais difícil do que a de moscas, por isso, o desenvolvimento da TIE para lepidópteros está atrasado com relação ao de dípteros. Mesmo assim, para Carpenter et al. (2005), o potencial de uso da TIE para lepidópteros é bastante promissor.

O atraso no horário de início da oviposição observado em gaiolas com dois machos pode ser um reflexo do assédio de ambos sobre a fêmea, que é constantemente forçada a se movimentar na tentativa de fugir dos machos. A hipótese de que na presença de dois machos a cópula ocorre mais cedo, atrasando a oviposição, foi descartada, já que não foram encontradas diferenças significativas entre os horários de início de acasalamento entre fêmeas com um e dois machos.

O acasalamento foi constatado em frequências significativas até a oitava hora da escotofase, enquanto os comportamentos de chamamento e oviposição não se estenderam além da sexta hora. Assim, de maneira geral, os comportamentos reprodutivos de *S. frugiperda* ocorreram com maior frequência do início até meados da escotofase, indicando que esta espécie apresenta hábitos crepusculares a noturnos.

Fêmeas de *S. frugiperda* começaram a ovipositar um dia após a primeira cópula, atingindo aproximadamente 80% da sua capacidade máxima de oviposição dois dias depois. Os 20% da capacidade restante foram distribuídos nos três dias seguintes. A presença de um macho adicional não teve reflexo sobre o tempo gasto na oviposição

e nem tampouco no número total de ovos colocados por fêmea, apesar do atraso gerado no início da oviposição. A preferência de fêmeas por machos anteriormente não utilizados para acasalamento, em detrimento dos machos com os quais já haviam acasalado, poderia ter a finalidade de aumentar a variabilidade genética de sua prole, mas esta hipótese não faz sentido para fêmeas que só buscam se acasalar uma vez, como foi observado em *S. frugiperda*. Assim, é mais provável que esta diferença seja resultado do maior empenho de machos virgens no processo de corte das fêmeas, o que acabaria lhes conferindo maior vantagem em relação aos machos não-virgens, que por já terem passado seus genes adiante, pelo menos uma vez, seriam menos ávidos pela cópula.

A idade da fêmea foi a variável determinante da coloração e viabilidade dos ovos. Assim, fêmeas mais jovens produziram ovos acinzentados e com maior taxa de viabilidade, ao passo que ovos castanhos foram menos viáveis e estiveram associados às fêmeas mais velhas.

Os horários de oviposição de *T. remus* e de *S. frugiperda* demonstraram que as atividades reprodutivas de ambas espécies podem se sobrepor. Assim, a atividade noturna de *T. remus* pode beneficiar a aptidão do parasitoide, já que neste horário existirão mais pistas químicas dos hospedeiros presentes no ambiente, facilitando o encontro com ovos de *S. frugiperda*.

A despeito de *S. frugiperda* ser uma importante espécie-praga nas Américas e Caribe (LEIDERMAN; SAUER, 1953; CARPENTER et al., 1983; ASHLEY, 1986; MITCHELL et al., 1991; BESERRA; PARRA, 2005), aspectos de seu comportamento reprodutivo ainda são pouco estudados. Muitos esforços têm sido feitos com o propósito de se identificar a composição química do feromônio de linhagens desta espécie no Brasil e no exterior (LIMA; MCNEIL, 2009; BATISTA-PEREIRA et al., 2006; TUMLINSON et al., 1986). Contudo, a idade com que as fêmeas iniciam a liberação de feromônio, assim como o horário-pico de liberação, ainda eram desconhecidos para a linhagem “milho” brasileira de *S. frugiperda*, apesar destes dados serem de grande importância no processo de extração de glândulas de feromônio visando à obtenção de extratos. Aspectos como horário e duração do acasalamento e oviposição têm sido ainda mais negligenciados. Assim, os resultados aqui apresentados poderão contribuir

para o melhor entendimento das interações envolvendo *S. frugiperda* e seus parasitoides de ovos, já que há evidências de que muitas espécies, inclusive do gênero *Telenomus*, utilizam pistas químicas liberadas por mariposas para realizar forésia (CLAUSEN, 1976) e aumentar as chances de encontro com hospedeiros recém-depositados e normalmente mais adequados para o desenvolvimento dos parasitoides.

2.5 Conclusão

Spodoptera frugiperda (J.E. Smith, 1797) realiza atividades reprodutivas em períodos bem definidos de sua vida, preferencialmente desde o início até meados da escotofase. Fêmeas de *Telenomus remus* Nixon 1937 parasitam ovos de *S. frugiperda* tanto durante o dia quanto durante a noite, o que eleva as suas chances de encontro com ovos recém-colocados.

Referências

- ARTHUR, V.; AGUILAR, J.A.D.; ARTHUR, P.B. Esterilização de adultos de *Spodoptera frugiperda* a partir de pupas irradiadas. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 69, p. 75-77, 2002.
- ASHLEY, T.R. Geographical distributions and parasitization levels for parasitoids of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. **Florida Entomologist**, Gainesville, v.69, p. 516-524, 1986.
- BATISTA-PEREIRA, L.G.; STEIN, K.; DE PAULA, A.F.; MOREIRA, J.A.; CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M.L.C.; PERRI, J.P.; CORREA, A.G. Isolation, identification, synthesis, and field evaluation of the sex pheromone of the Brazilian population of *Spodoptera frugiperda*. **Journal of Chemical Ecology**. New York, v. 32, p. 1085-1099, 2006.
- BECK, S.D. **Insect photoperiodism**. New York: Academic Press, 1968. 288 p.
- BENTO, J.M.S.; PARRA-PEDRAZZOLI, A.L. Feromônios e o controle biológico de pragas. In: PINTO, A.L.S.; NAVA, D.E.; ROSSI, M.M.; MALERBO-SOUZA, D.T. (Org.). **Controle biológico de pragas na prática**. Piracicaba: CP2, 2006. p. 213-219.
- BESERRA, E.B.; PARRA, J.R.P. Impact of the number of *Spodoptera frugiperda* egg layers on parasitism by *Trichogramma atopovirilia*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, p. 190-193, 2005.

BLOMQUIST, G.J.; VOGT, R.G. Biosynthesis and detection of pheromones and plant volatiles - introduction and overview. In: _____. **Insect pheromone biochemistry and molecular biology**: the biosynthesis and detection of pheromones and plant volatiles. London: Elsevier, 2003. p. 3-18.

CARPENTER, J.E.; BLOEM, S.; MAREC, F. Inherited sterility in insects. In: DYCK, V.A.; HENDRICHS, J.; ROBINSON, A.S. **Sterile insect technique**: principles and practice in area-wide integrated pest management. Vienna: Springer, 2005. p. 115-146.

CARPENTER, J.E.; YOUNG, J.R.; KNIPLING, E.F.; SPARKS, A.N. Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): inheritance of gamma-induced deleterious effects and potential for pest control. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 76, p. 378-382, 1983.

CLAUSEN, C.P. Phoresy among entomophagous insects. **Annual Review of Entomology**. Palo Alto, v. 21, p. 343-368, 1976.

GAZIT, Y.; LEWIS, W.J.; TUMLINSON, J.H. Arrestment of *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae) by a kairomone associated with eggs of its host, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Biological Control**, San Diego, v. 6, p. 283-290, 1996.

GREENE, G.L.; LEPPLA, N.C.; DICKERSON, W.A. Velvetbean caterpillar. A rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 69, p. 447-448, 1976.

JUDD, G.J.R.; GARDINER, M.G.T.; THISTLEWOOD, H.M.A. Seasonal variation in recapture of mass-reared sterile codling moth, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae): implications for control by sterile insect technique in British Columbia. **Journal of the Entomological Society of British Columbia**. Victoria, v. 101, p. 29-44, 2004.

KLASSEN, W.; CURTIS, C.F. History of insect sterile technique. In: DYCK, V.A.; HENDRICHS, J.; ROBINSON, A.S. **Sterile insect technique**: principles and practice in area-wide integrated pest management. Vienna: Springer, 2005. p. 3-36.

KNIPLING, E.F. Possibilities of insect control or eradication through the use of sexually sterile males. **Journal of Economic Entomology**. College Park, v. 48, p. 459-462, 1955.

_____. Suppression of pest Lepidoptera by releasing partially sterile males: a theoretical appraisal. **Bioscience**, Berkeley, v. 20, p. 465-470, 1970.

LEIDERMAN, L.; SAUER, H.F.G. A lagarta dos milharais *Laphygma frugiperda* (Abott & Smith, 1797). **O Biológico**. São Paulo, v. 19, p. 105-113, 1953.

LEWIS, W.J.; MARTIN JR., W.R. Semiochemical for use with parasitoids: status and future. **Journal of Chemical Ecology**. New York, v. 16, p. 3067-3089, 1990.

LIMA, E.R.; MCNEIL, J.N. Female sex pheromones in the host races and hybrids of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Chemoecology**, Bruxelas, v. 29, p. 29-36, 2009.

MITCHELL, E.R.; McNEIL, J.N.; WESTBROOK, J.K.; SILVAIN, J.F.; LALANNE-CASSOU, B.; CHALFANT, R.B.; PAIR, S.D.; WADDILL, V.H.; SOTOMAYOR-RIOS, A.; PROSHOLD, F.I. Seasonal periodicity of fall armyworm, (Lepidoptera: Noctuidae) in the Caribbean Basin and Northward to Canada. **Journal of Entomological Science**. Griffin, v. 26, p. 39-50, 1991.

NALIM, D.M. **Biologia, nutrição quantitativa e controle de qualidade de populações de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas dietas artificiais**. 1991. 150 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1991.

NATION, J.L. **Insect physiology and biochemistry**. Boca Raton: CRC Press, 2002. 485 p.

NORDLUND, D.A.; LEWIS, W.J.; GUELDNER, R.C. Kairomones and their use for management of entomophagous insects: XIV. Response of *Telenomus remus* to abdominal tips of *Spodoptera frugiperda*, (Z)-9-Tetradecene-1-ol acetate and (Z)-9-dodecene-1-ol acetate. **Journal of Chemical Ecology**. New York, v. 9, p. 695-701, 1983.

PARRA, J.R.P. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. Piracicaba: FEALQ, 2001. 137 p.

PASHLEY, D.P.; HAMMOND, A.M; HARDY, T.N. Reproductive isolating mechanisms in fall armyworm host strains (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of the Entomological Society of America**, Lexington, v. 85, p. 400–405, 1992.

SAUNDERS, D.S. Circadian rhythms and the evolution of photoperiodic timing in insects. **Physiological Entomology**, London, v. 34, p. 301-308, 2009.

TRIPLEHORN, C.A.; JOHNSON, N.F. **Borror and DeLong's Introduction to the study of insects**. Belmont: Thomson, 2005. 864 p.

TUMLINSON, J.H.; MITCHELL, E.R.; TEAL, P.E.A.; HEATH, R.R.; MENGELKOCH, L.J. Sex pheromone of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) identification of components critical to attraction in the field. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 12, p. 1909-1926, 1986.

VET, L.E.M.; DICKE, M. Ecology of infochemicals use by natural enemies in tritrophic context. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 37, p. 414-172, 1992.

3 EFEITO DA TEMPERATURA SOBRE CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS E EXIGÊNCIAS TÉRMICAS DE TRÊS ESPÉCIES DE PARASITÓIDES DE OVOS DE *Spodoptera frugiperda*

Resumo

Telenomus remus Nixon 1937 (Hymenoptera: Scelionidae), *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner 1983 e *T. pretiosum* Riley 1879 (Hym.: Trichogrammatidae) são parasitoides de ovos com grande potencial de controle de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. O objetivo deste trabalho foi determinar os efeitos da temperatura sobre algumas características biológicas destes parasitoides, assim como conhecer as suas exigências térmicas, visando a identificar, dentre as três espécies, qual delas apresenta maior potencial para controle de *S. frugiperda* nas principais regiões produtoras de milho do Brasil. Os parasitoides foram criados em ovos de *S. frugiperda* a 15, 18, 21, 24, 27, 30 e 33 °C. Avaliaram-se a duração do período ovo-adulto, a mortalidade de imaturos, a razão sexual e o número de adultos por ovo hospedeiro nas diferentes temperaturas. A partir dos dados de duração do período ovo-adulto calcularam-se a temperatura base (T_b, em °C) e a constante térmica (K, em graus-dia - GD), para cada uma das três espécies. A temperatura não afetou a razão sexual de nenhuma das espécies de parasitoides estudadas. Com exceção de *T. remus* a 15°C, as três espécies foram aptas a se desenvolver e emergir em toda a faixa térmica estudada, embora *T. remus* e *T. pretiosum* tenham apresentado maior mortalidade sob temperaturas mais baixas, ao contrário de *T. atopovirilia*, cuja mortalidade não interagiu com a temperatura. Invariavelmente, observou-se a emergência de apenas um adulto de *T. remus* por ovo, valor quase sempre inferior ao dos tricogramatídeos, que apresentaram uma variação de 1,38 a 2,28 parasitoides/ovo. Em contrapartida, a duração do período ovo-adulto do escelionídeo foi sempre superior à dos tricogramatídeos. As temperaturas bases e constantes térmicas foram, respectivamente, 12,79 °C e 155,04 GD para *T. remus*; 10,73 °C e 143,47 GD para *T. atopovirilia*; e 11,51 °C e 130,89 GD para *T. pretiosum*. Os resultados mostraram que, dentre as três espécies estudadas, *T. remus* é a mais exigente quanto às necessidades térmicas, tendo maior probabilidade de se desenvolver com sucesso apenas em regiões de clima quente; ao passo que *T. atopovirilia* mostrou-se como a espécie de maior faixa ótima de desenvolvimento, podendo apresentar elevado potencial tanto para regiões de clima tropical, como subtropical.

Palavras-chave: Temperatura base; Constante térmica; *Trichogramma atopovirilia*; *Trichogramma pretiosum*; *Telenomus remus*; Parasitoide de ovos

Abstract

The wasps *Telenomus remus* Nixon 1937 (Hymenoptera: Scelionidae), *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner 1983, and *T. pretiosum* Riley 1879 (Hym.: Trichogrammatidae) are egg parasitoids with good potential for controlling populations of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera:

Noctuidae), a pest of corn, in Brazil. The aim of this study was to determine the effects of temperature on certain biological characteristics of these parasitoids, as well as to estimate their thermal requirements, in order to identify which parasitoid has the best potential for controlling *S. frugiperda* in the main corn-producing regions of Brazil. The parasitoids were reared on *S. frugiperda* eggs at 15, 18, 21, 24, 27, 30 and 33 °C. The period from egg to adult, percentage of mortality of immatures, sex ratio, and number of adults emerged per host egg were evaluated. From data for the egg-to-adulthood period, the lowest temperature threshold (T_t , in °C) and the thermal constant (K , in degree-days - DD) were calculated for each parasitoid species. Temperature did not affect the sex ratio of the three species. With the exception of *T. remus* at 15°C, all three parasitoid species were able to develop and emerge over the entire temperature range. However, *T. remus* and *T. pretiosum* both showed high mortality at low temperatures, in contrast to *T. atopovirilia* in which mortality was unaffected by temperature. Invariably, a single *T. remus* adult emerged per host egg, a value almost always lower than for the trichogrammatids, which varied from 1.38 to 2.28 parasitoids per egg. The duration of the egg-to-adulthood period of the scelionid *T. remus* was always longer than those of the trichogrammatids *T. atopovirilia* and *T. pretiosum*. The lowest temperature thresholds and thermal constants were, respectively, 12.79 °C and 155.04 DD for *T. remus*, 10.73 °C and 143.47 DD for *T. atopovirilia*, and 11.51 °C and 130.89 DD for *T. pretiosum*. The results showed that *T. remus* is the most demanding species in its thermal requirements of the three parasitoid species studied, with a high probability of only succeeding in warm regions; while *T. atopovirilia* showed the widest temperature range for optimal development, and a high potential for success in both warm and cold regions.

Keywords: Lowest temperature threshold; Thermal constant; *Trichogramma atopovirilia*; *Trichogramma pretiosum*; *Telenomus remus*; Egg parasitoid

3.1 Introdução

O Brasil ocupa a quarta colocação no ranking mundial de produção de milho, com 56,1 milhões de toneladas produzidas na safra 2009/2010, mantendo-se atrás apenas dos EUA, China e União Europeia (FNP, 2010). Seu cultivo se encontra distribuído em praticamente todo território nacional, embora 90% da produção se concentre nas regiões Sul (43%), Sudeste (25%) e Centro-Oeste (22%). Apesar de ser insumo utilizado na fabricação de uma centena de produtos, entre 70 e 80% da produção nacional de milho é destinada à fabricação de ração para suínos e aves (GARCIA et al., 2006). O Brasil está entre os maiores produtores destes animais e é o maior exportador mundial de carne de frango (TALAMINI et al., 2005). De acordo com Garcia et al. (2006), para atender à demanda por ração animal para alimentação de frangos, estima-se que em 2015 serão necessárias 55 milhões de toneladas de milho.

Toda esta demanda tem feito com que novas fronteiras agrícolas e tecnologias sejam criadas, permitindo o cultivo do milho durante praticamente todo o ano. Estes fatores podem estar fortemente relacionados com o surgimento de novas pragas como também ao aumento dos problemas relacionados àquelas já existentes (PARRA; OMOTO, 2004). Hoje, sabe-se que populações da lagarta-do-cartucho [*Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797)] (Lepidoptera: Noctuidae), principal inseto-praga do milho (BESERRA; PARRA, 2005), estão sendo favorecidas pela produção ininterrupta desta cultura em algumas regiões do país, com o advento da safrinha, além do cultivo tradicional de verão.

A lagarta-do-cartucho é um inseto polífago, com ampla distribuição no Brasil, associada a cultivos de elevada importância agrícola, como algodão, milho, amendoim, arroz, trigo, soja, hortaliças e cana-de-açúcar (LEIDERMAN; SAUER, 1953). Em adição ao fato do milho estar sendo produzido por meio de cultivos ininterruptos durante todo o ano, outros fatores têm contribuído para o aumento da importância da lagarta-do-cartucho no país, como as rotações entre culturas hospedeiras (ex: soja) e a aplicação indiscriminada de inseticidas (PINTO et al., 2004; PARRA; OMOTO, 2004).

A utilização exclusiva de inseticidas para controle desta praga, além de prejudicial é insustentável. O planejamento do sistema de produção em uma determinada região é o passo crucial para a implementação de estratégias efetivas de manejo de pragas. No entanto, este princípio básico para uma agricultura sustentável não está sendo obedecido no Brasil (PARRA; OMOTO, 2004). A implementação da estratégia de MIP, que integra os diferentes métodos de controle de insetos, eliminando a dependência única dos agroquímicos, valoriza o controle biológico, inclusive aquele que ocorre naturalmente nas lavouras (VILELA et al., 1998).

Telenomus remus Nixon 1937 (Hymenoptera: Scelionidae), *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner 1983 e *T. pretiosum* Riley 1879 (Hym.: Trichogrammatidae) são parasitoides de ovos de *S. frugiperda*. *T. remus* foi introduzido no Brasil há 25 anos visando ao controle de *S. frugiperda* e os relatos mais recentes referem sua presença em catorze países das Américas e Caribe (MOLINA-OCHOA et al., 2003). *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* são espécies naturalmente encontradas em agroecossistemas brasileiros (BESERRA; DIAS; PARRA, 2002). Segundo Bezerra e

Parra (2005), *T. remus* e *T. atopovirilia* são inimigos naturais que têm potencial para controlar *S. frugiperda*. Este último, juntamente com *T. pretiosum*, já vem sendo liberado em 60 mil ha de milho no Brasil, para controle deste inseto-praga (PARRA; KOVALESKI, 2006; PARRA; ZUCCHI, 2004).

Antes que um programa de controle biológico possa ser implementado, uma série de etapas precisa ser cumprida, incluindo estudos de interação de agentes de controle biológico com fatores abióticos, como a temperatura (BOTELHO, 1997), a qual é um fator limitante ao desenvolvimento de seres vivos (ODUM; BARRET, 2007), sendo evidente que o desenvolvimento de insetos se faz somente dentro de certos limites de temperatura, que são variáveis segundo as espécies (ROSSI, 1997). O conhecimento da faixa de temperatura mais adequada para o desenvolvimento e sobrevivência de um agente de controle biológico é crucial à avaliação de seu potencial de utilização em uma determinada região, assim como à reprodução das condições ideais para a sua criação em condições de laboratório.

Assim, o objetivo deste trabalho foi determinar os efeitos da temperatura sobre algumas características biológicas de *T. remus*, *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*, assim como conhecer as suas exigências térmicas, visando a identificar, dentre as três espécies, qual delas apresenta maior potencial para controle de *S. frugiperda* nas principais regiões produtoras de milho do Brasil.

3.2 Material e métodos

3.2.1 Obtenção e criação dos insetos

Ovos de *S. frugiperda* foram obtidos a partir de uma criação em laboratório, conforme descrição no item 2.3.1.

Populações de *T. remus*, *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* foram mantidas em laboratório a partir de exemplares coletados em campo, conforme descrição a seguir.

Cinquenta e duas massas com pelo menos 200 ovos de *S. frugiperda* recém-colocados (<18h) foram espalhadas em uma área cultivada com milho (com idade de aproximadamente 60 dias pós-emergência), no campus da ESALQ/USP. Para expor as posturas em campo sem que estas sofressem efeitos diretos da chuva, dos raios solares e dos predadores, foi desenvolvido um envoltório protetor, confeccionado com

um copo plástico descartável (50mL), cujo fundo foi fixado à extremidade de um segmento (50cm) de barbante de algodão. A outra extremidade do barbante foi amarrada em uma folha da planta de milho, de forma que o copo plástico ficasse com a sua abertura voltada para baixo. A postura de *S. frugiperda* foi colocada dentro do copo, fixada com fita adesiva (Figura 3.1).

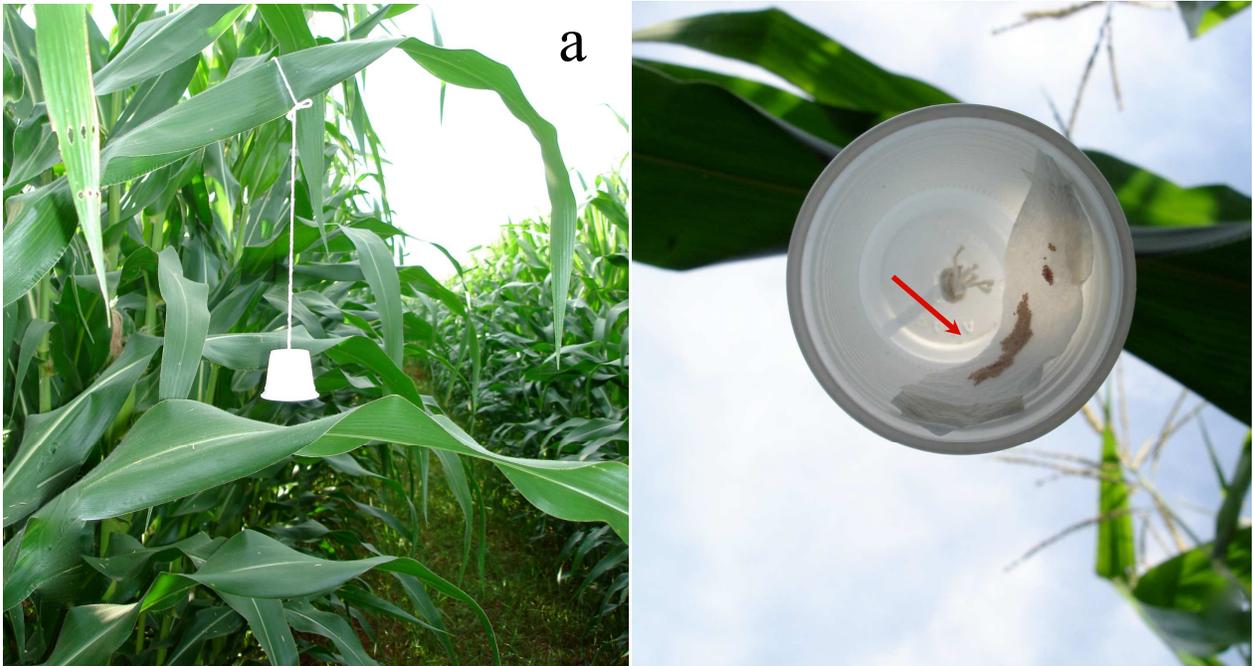


Figura 3.1 - (a) Dispositivo utilizado para captura de parasitoides de ovos de *Spodoptera frugiperda* em cultivo de milho; (b) detalhe do dispositivo instalado, exibindo um recorte de papel com postura de *S. frugiperda* (<18h) (seta), fixado à parede do copo plástico com fita adesiva

Os dispositivos de coleta foram espalhados em seis linhas de milho, em espaçamento de 8 a 10m, ficando expostos por 48h. Após este período os dispositivos foram recolhidos, sendo as posturas acondicionadas individualmente em tubos de vidro (2x8cm) fechados com filme de PVC, os quais foram mantidos em câmara climatizada (24±1°C, UR de 70%, fotoperíodo 14L:10E) até a emergência de adultos dos parasitoides e/ou até a eclosão de lagartas.

Todas as 52 posturas de *S. frugiperda* expostas em campo voltaram ao laboratório parasitadas por ou *T. remus* ou *T. pretiosum* ou *T. atopovirilia* ou por alguma combinação destas espécies. Logo após a emergência dos adultos, até 20 fêmeas de cada tubo foram separadas para preparo de isolinhagens, oferecendo-lhes ovos de *S.*

frugiperda para que fossem parasitados. Machos emergidos dos ovos parasitados por cada um destas fêmeas foram mortos em álcool 70%, fixados em lâminas de vidro sobre meio Hoyer's e então enviados à Eng. Agrônoma Jaci Mendes Vieira, mestranda do curso de Pós-graduação em Entomologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ), da Universidade de São Paulo (USP), para identificação, enquanto que o restante dos indivíduos foi multiplicado em ovos de *S. frugiperda* para sua manutenção em laboratório.

Para a multiplicação dos parasitoides, foram utilizadas massas de ovos de *S. frugiperda* com até 48h pós-oviposição. As massas foram fixadas com cola branca (Tenaz[®]) em cartelas (1,7 x 7 cm) de papel sulfite e então transferidas para tubos de vidro (2x8cm) contendo adultos dos parasitoides, sendo aí mantidas por duas horas visando ao parasitismo. Após este período, as cartelas foram retiradas dos tubos, eliminando-se todos os adultos dos parasitoides remanescentes, e então foram transferidas para novos tubos, os quais foram fechados com filme de PVC e mantidos em câmara climatizada (24±1°C, UR de 70%, fotoperíodo 14L:10E), visando ao desenvolvimento dos parasitoides. No interior dos tubos foram espalhadas gotas de mel de abelhas puro para alimentação dos adultos.

3.2.2 Procedimentos experimentais

Sete ovos de *S. frugiperda* recém-colocados (<12h) foram fixados no centro de cartelas (1x1 cm) de papel sulfite, elaboradas com o papel advindo das gaiolas de criação de adultos de *S. frugiperda*, ou seja, o mesmo papel onde as fêmeas da mariposa ovipositaram. Provavelmente, por conter semioquímicos deixados pelas mariposas e utilizados pelos parasitoides como pistas na busca de hospedeiros (GAZIT; LEWIS; TUMLINSON, 1996), este papel facilitou o encontro dos parasitoides com os ovos de *S. frugiperda* presentes em cada cartela.

Os ovos foram extraídos cuidadosamente da folha de papel sulfite onde foram colocados pelas mariposas, com auxílio de um pincel fino (n^o 000). Apesar das fêmeas de *S. frugiperda* ovipositarem formando massas de ovos (posturas), geralmente em duas ou três camadas, a fricção do pincel com os ovos os destaca facilmente da

massa original, individualizando-os. Após este procedimento, os ovos foram fixados na região central de cada cartela, utilizando-se o pincel umedecido em água destilada.

Após a confecção das cartelas contendo ovos, foram iniciados os testes. Cada cartela foi colocada em um tubo (1,2 x 7 cm) de vidro contendo uma fêmea do parasitoide e uma gotícula de mel de abelhas puro para a sua alimentação. Os tubos foram fechados com filme de PVC e então iniciou-se a observação da movimentação dos parasitoides. Assim que o encontro da fêmea com os ovos de *S. frugiperda* foi detectado, deu-se início à contagem de 30 minutos. Durante este período a movimentação dos parasitoides continuou sendo monitorada e ao seu final a fêmea foi eliminada e a cartela recolhida. Ovos explorados por período inferior a 10 minutos foram descartados juntamente com as fêmeas e substituídos por um novo conjunto ovos+fêmea.

Com auxílio de pincel fino e água destilada, os ovos submetidos ao parasitismo foram imediatamente separados e fixados individualmente em sete novas cartelas de 1x1 cm, sendo cada uma acondicionada em um tubo de vidro (1,2x 7cm), fechado com filme de PVC e distribuídos em sete câmaras climatizadas reguladas nas temperaturas de 15, 18, 21, 24, 27, 30 e $33\pm 1^{\circ}\text{C}$ ($70\pm 10\%$ de U.R. e 14 horas de fotofase). Desta forma, a prole de cada fêmea foi submetida a todas as temperaturas testadas. A partir do quinto dia e duas vezes ao dia (horas 2 e 10 da fotofase), todos os tubos foram revisados para avaliação de adultos recém-emergidos. Sempre que isso ocorreu, registraram-se o número e o sexo dos indivíduos emergidos. Ao final do ensaio, registraram-se também o número de ovos murchos (que não deram origem nem a lagartas e nem a parasitoides, mostrando-se escurecidos e com perda de volume ao final do ensaio) e o número de adultos não emergidos.

Utilizaram-se fêmeas de 1 a 3 dias de idade, sem experiência de oviposição (“naïve”) e acasaladas. Este ensaio foi repetido 50 vezes para cada espécie de parasitoide. As três espécies foram testadas simultaneamente.

Foram calculados a duração do período ovo-adulto, a razão sexual, o número de adultos emergidos por ovo hospedeiro e a mortalidade de imaturos, sendo esta constituída pela soma de ovos que não originaram adultos.

A partir do período de desenvolvimento ovo-adulto foram determinados o limite térmico inferior (ou temperatura base - T_b , em °C) e a constante térmica (K, em graus-dia - GD) das três espécies de parasitoides, de acordo com a metodologia proposta por Haddad e Parra (1984).

3.3 Resultados

A temperatura afetou significativamente o período de desenvolvimento de machos e fêmeas de *T. remus*, *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* (Kruskal-Wallis, $p < 0,0001$). Observou-se emergência de adultos das três espécies em todas as temperaturas avaliadas, com exceção de *T. remus* a 15°C (Tabela 3.1).

Machos e fêmeas de *T. atopovirilia* apresentaram períodos de desenvolvimento bastante semelhantes entre si, não observando-se diferenças significativas entre os sexos em nenhuma das temperaturas testadas ($p > 0,05$). Além disso, a faixa de temperatura que proporciona menor período de desenvolvimento foi a mesma para ambos os sexos, ou seja, de 27 a 33 °C (Tabela 3.1).

Machos e fêmeas de *T. pretiosum* também se desenvolveram em períodos semelhantes em todas as temperaturas testadas (ANOVA, $p > 0,05$). Entretanto, a faixa de temperatura que proporciona menor período de desenvolvimento foi mais curta para fêmeas (30-33°C) do que para machos (27-33°C) (Tabela 3.1).

Para *T. remus*, ao contrário do observado nos tricogramatídeos, a ordem de emergência de machos e fêmeas variou com a temperatura. A 24 e 30 °C, as fêmeas apresentaram período de desenvolvimento significativamente maior do que o de machos (ANOVA, $p \leq 0,03$); nas demais temperaturas, machos e fêmeas emergiram simultaneamente. O desenvolvimento de fêmeas foi mais rápido em 30 e 33°C, e o de machos, entre 27 e 33°C (Tabela 3.1).

Em todas as temperaturas estudadas tanto os machos quanto as fêmeas dos tricogramatídeos apresentaram menor período de desenvolvimento do que machos e fêmeas do esclionídeo. Fêmeas de *T. atopovirilia* e de *T. pretiosum* emergiram simultaneamente na faixa de 15 a 30°C; entretanto, a 33°C as fêmeas de *T. pretiosum* emergiram com antecedência significativa (Kruskal-Wallis, $p < 0,0001$). Com relação aos machos, a ordem de emergência entre os tricogramatídeos também variou com a

temperatura, sendo que a 21°C, *T. atopovirilia* emergiu antes de *T. pretiosum* (ANOVA, $p < 0,0001$); em todas as demais temperaturas a emergência de machos das duas espécies foi simultânea (Figura 3.2).

A temperatura não afetou a razão sexual de nenhuma das três espécies de parasitoides estudadas. A 24°C, os valores deste parâmetro para *T. remus*, *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* foram, respectivamente, 0,63; 0,64; e 0,77 (Figura 3.2). Na comparação entre as três espécies, as razões sexuais constatadas para os dois tricogramátídeos não diferiram entre si em nenhuma das temperaturas testadas. Entretanto, a 27°C a razão sexual dos adultos de *T. remus* foi superior à de *T. atopovirilia* (ANOVA, $p = 0,03$) (Figura 3.2).

Tabela 3.1 - Duração do período ovo-adulto (dias) de machos e fêmeas de *Telenomus remus*, *Trichogramma atopovirilia* e *T. pretiosum*, criados em ovos de *Spodoptera frugiperda*, em diferentes temperaturas (70±10% de U.R. e fotoperíodo 14L:10E)¹

Temp. (±1 °C)	<i>T. remus</i>		<i>T. atopovirilia</i>		<i>T. pretiosum</i>	
	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
15	-	-	35,14±0,58 Aa	34,96±0,39 Aa	33,87±0,74 Aa	35,04±0,41 Aa
18	28,33±0,88 Aa	29,40±0,56 Aa	20,89±0,30 Aa	21,13±0,19 ABa	21,07±0,40 ABa	21,43±0,26 ABa
21	22,16±0,31 Aa	21,25±0,21 ABa	15,00±0,12 ABa	14,96±0,09 Ba	15,61±0,16 ABa	15,37±0,12 BCa
24	13,60±0,13 Aa	14,00±0,12 BCb	10,36±0,10 BCa	10,23±0,08 BCa	10,06±0,06 BCa	10,07±0,04 CDa
27	10,00±0,00 ABa	10,18±0,08 Ca	8,09±0,06 CDa	8,03±0,03 CDa	8,04±0,04 CDa	8,05±0,04 Da
30	8,36±0,13 Ba	8,73±0,09 Db	7,06±0,06 Da	7,08±0,05 Da	6,64±0,15 Da	6,76±0,10 Ea
33	8,15±0,10 Ba	8,23±0,09 Da	7,00±0,00 Da	7,07±0,05 Da	6,43±0,1 Da	6,47±0,08 Ea

¹Média ± erro padrão da média. Letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (ANOVA ou Kruskal-Wallis, $p < 0,05$); letras maiúsculas: comparação entre temperaturas dentro da espécie/sexo; letras minúsculas: comparação entre sexos dentro de cada espécie.

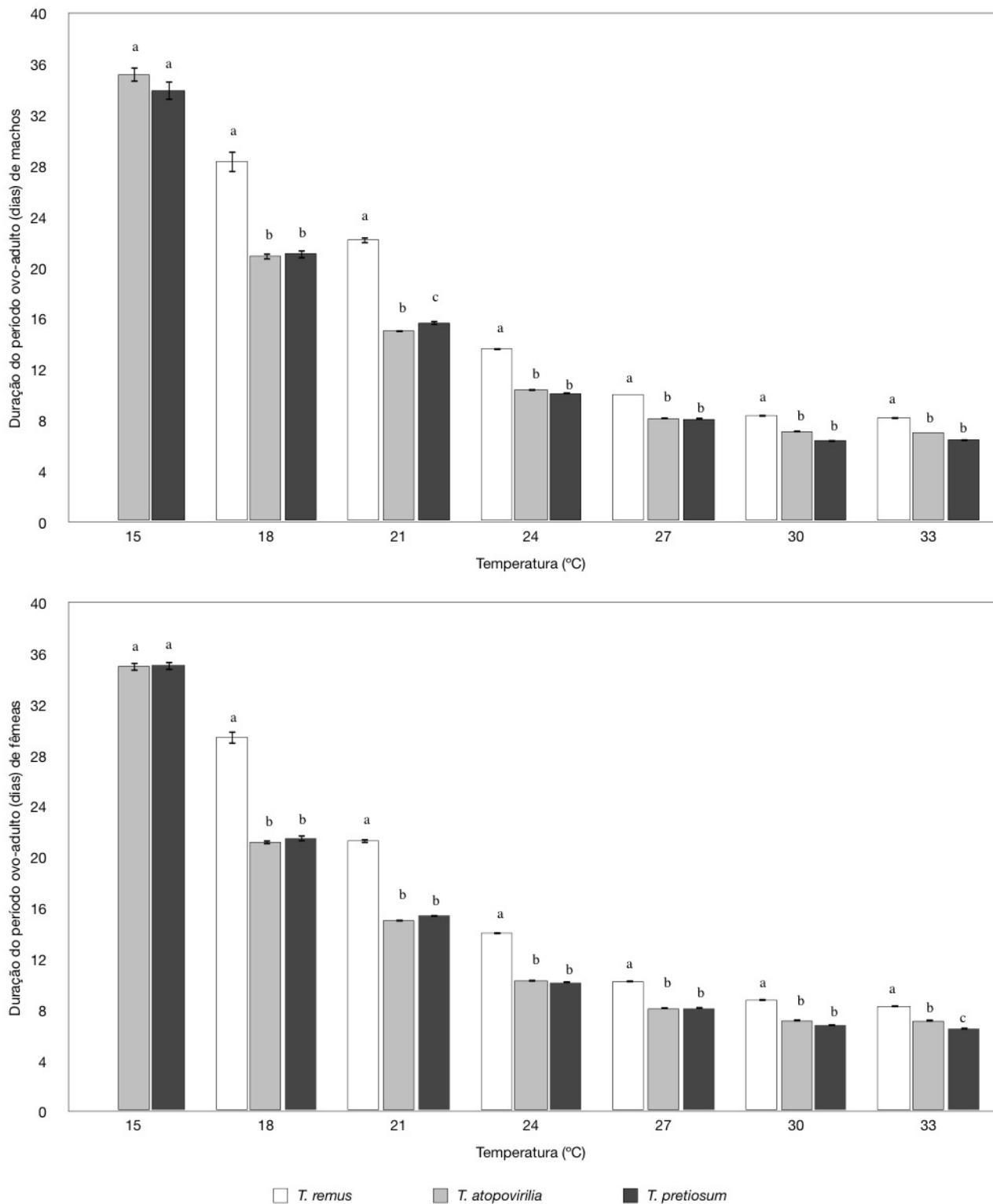


Figura 3.2 - Período ovo-adulto (dias) de machos (a) e fêmeas (b) de *Telenomus remus*, *Trichogramma atopovirilia* e *T. pretiosum*, em diferentes temperaturas (70±10% de U.R. e 14 horas de fotofase). Letras distintas indicam diferenças significativas entre as espécies

Com relação à mortalidade de imaturos, a temperatura causou efeitos peculiares sobre cada uma das três espécies de parasitoides estudadas. Enquanto para *T. atopovirilia* o efeito foi nulo (ANOVA, $p=0,41$), foram constatadas diferenças significativas para *T. remus* (ANOVA, $p<0,0001$) e para *T. pretiosum* (ANOVA, $p=0,005$). Assim, para estas espécies, as menores percentagens de mortalidade aconteceram, respectivamente, nas faixas de 24 a 33; e de 18 a 33 °C (Tabela 3.2). Na comparação entre espécies, observou-se diferenças apenas nas temperaturas extremas. Assim, *T. remus* mostrou-se mais sensível do que os tricogramatídeos às temperaturas mais baixas (15 e 18 °C), já que nesta espécie observou-se maior mortalidade de imaturos (ANOVA, $p\leq 0,001$). Entretanto, a 33°C este quadro se inverteu e as espécies de *Trichogramma* sofreram maior mortalidade do que *T. remus* (ANOVA, $p=0,03$) (Tabela 3.2).

Ainda com relação à mortalidade de imaturos, as performances de *T. atopovirilia* e de *T. pretiosum* foram semelhantes em todas as temperaturas testadas, com exceção à de 15°C, na qual *T. pretiosum* foi mais sensível, apresentando maior mortalidade (Tabela 3.2).

Independentemente da temperatura testada, observou-se a emergência de apenas um adulto de *T. remus* por ovo hospedeiro, valor significativamente inferior aos apresentados por *T. pretiosum* em todas as temperaturas; e por *T. atopovirilia* nas temperaturas de 15 a 30°C (Kruskal-Wallis, $p<0,0001$).

Para *T. atopovirilia*, o número de adultos por ovo variou de 1,58 a 2,03 na faixa de 15 a 30°C, caindo significativamente para 1,38 em 33°C (ANOVA, $p=0,006$). Para *T. pretiosum*, as temperaturas na faixa de 21 a 27 e a de 33 °C proporcionaram maior número de adultos por ovo (ANOVA, $p<0,0001$). Ambos os tricogramatídeos apresentaram valores semelhantes entre si na faixa de 15 a 30°C, embora a 33°C *T. pretiosum* tenha produzido um número de adultos superior ao de *T. atopovirilia* (Tabela 3.2).

Tabela 3.2 - Mortalidade de imaturos (%) e número de adultos emergidos por ovo hospedeiro de *Telenomus remus*, *Trichogramma atopovirilia* e *T. pretiosum*, criados em ovos de *Spodoptera frugiperda*, em diferentes temperaturas (70±10% de UR e fotoperíodo 14L:10E)¹

Temp. (±1 °C)	Mortalidade de imaturos (%)			Número de adultos por ovo hospedeiro		
	<i>T. remus</i>	<i>T. atopovirilia</i>	<i>T. pretiosum</i>	<i>T. remus</i>	<i>T. atopovirilia</i>	<i>T. pretiosum</i>
15	100,0±0,0 Aa	26,0±4,0 Ab	46±7,5 Ac	-	1,58±0,12 ABa	1,58±0,12 Aa
18	58,3±4,9 Ba	22,0±2,8 Ab	26,0±5,4 ABb	1,0±0,0 a	1,95±0,13 Ab	1,69±0,12 Ab
21	36,0±6,8 BCa	26,0±5,1 Aa	14,0±5,1 Ba	1,0±0,0 a	1,89±0,15 ABb	1,9±0,12 ABb
24	8,0±5,8 Da	28,0±3,7 Aa	18,0±7,3 Ba	1,0±0,0 a	2,03±0,14 Ab	2,28±0,12 Bb
27	2,0±2,0 Da	14,0±7,5 Aa	8,0±3,7 Ba	1,0±0,0 a	1,85±,10 ABb	2,0±0,11 ABb
30	16,0±6,0 CDa	20,0±7,7 Aa	18,0±9,2 Ba	1,0±0,0 a	1,97±0,11 Ab	1,67±0,11 Ab
33	14,0±4,0 CDa	32,0±4,9 Ab	22,0±3,7 ABab	1,0±0,0 a	1,38±0,10 Ba	1,97±0,13 ABb

¹Média ± erro padrão da média. Letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (p<0,05); letras maiúsculas: comparação entre temperaturas dentro da espécie; letras minúsculas: comparação entre espécies dentro de cada temperatura.

A partir dos dados apresentados, pôde-se constatar que as temperaturas que proporcionaram menor período ovo-adulto, maior razão sexual, menor mortalidade de imaturos e maior número de adultos por ovo hospedeiro de *T. remus*, *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* foram, respectivamente, 30-33, 27-30 e 33 °C (Tabela 3.3).

Tabela 3.3 - Quadro resumo das temperaturas que favorecem cada um dos parâmetros biológicos de *Telenomus remus*, *Trichogramma atopovirilia* e *T. pretiosum*, criados em ovos de *Spodoptera frugiperda* (70±10% de UR e fotoperíodo 14L:10E)

Parâmetro	<i>Telenomus remus</i>				<i>Trichogramma atopovirilia</i>				<i>Trichogramma pretiosum</i>									
	15	18	21	24	27	30	33	15	18	21	24	27	30	33				
Duração do período ovo-adulto					X	X					X	X	X			X	X	
Razão sexual	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Mortalidade das fases imaturas				X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X	X
Adultos por ovo hospedeiro	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X			X	X	X	X
Todos os parâmetros					X	X					X	X						X

Os limites térmicos inferiores (ou temperaturas bases - Tb) e as constantes térmicas (K) das três espécies de parasitoides são apresentados na Tabela 3.4. Uma vez que a emergência de machos e fêmeas foi simultânea para os tricogramatídeos ou com pequenas oscilações para *T. remus* nas temperaturas testadas, não foram realizados cálculos separados para machos ou fêmeas, mas sim, cálculos unificando dados de ambos os sexos, para cada espécie.

Tabela 3.4 - Limite térmico inferior (ou temperatura base - Tb) e constante térmica (K) de *Telenomus remus*, *Trichogramma atopovirilia* e *T. pretiosum*, criados em ovos de *Spodoptera frugiperda*, em temperaturas constantes (70±10% de UR e fotoperíodo 14L:10E)¹

	<i>T. remus</i>	<i>T. atopovirilia</i>	<i>T. pretiosum</i>
Temperatura base (Tb, em °C)	12,79	10,73	11,51
Constante térmica (K, em graus-dia - GD)	155,04	143,47	130,89

3.4 Discussão

De um modo geral, desenvolvimento e sobrevivência de *T. remus*, *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* foram favorecidos por temperaturas elevadas. Estes resultados poderiam ser esperados, já que *T. remus* é originário da Malásia (GERLING, 1974; ROTHSCCHILD, 1970), país tropical localizado no sudeste asiático, caracterizado por clima quente e úmido. Também *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* são espécies naturalmente encontradas em regiões quentes do Brasil (PRATISSOLI et al., 2006; ZAGO et al., 2006; MELO et al., 2007; BESERRA; DIAS; PARRA, 2002; BUENO et al., 2009, 2010), embora seja impossível afirmar que elas sejam nativas do país, devido à introdução de espécies visando à programas de controle biológico de pragas (ZUCCHI; MONTEIRO, 1997).

Apesar de ter apresentado melhor performance a 27 e a 30 °C, *T. atopovirilia* se desenvolveu bem em toda a faixa térmica estudada, sendo a única espécie, dentre as três avaliadas, cuja mortalidade das fases imaturas não foi afetada pela temperatura, mesmo a 15°C, na qual metade da população de *T. pretiosum* e toda população de *T. remus* não se desenvolveram. Estes resultados atestam a elevada flexibilidade desta espécie no se refere à temperatura, assim como a sua possível adequação também às regiões subtropicais, menos quentes, além das tropicais.

Embora seja mais sensível à temperatura do que *T. atopovirilia*, *T. pretiosum* também apresentou bom desenvolvimento na faixa de 18 a 33 °C, com taxa de mortalidade das fases imaturas e período ovo-adulto semelhantes aos de *T. atopovirilia*. Entretanto, *T. remus* mostrou-se bem mais sensível à temperatura do que as demais espécies, sendo a única não apta a se desenvolver a 15°C. Ainda, a faixa de temperatura que proporcionou-lhe menor mortalidade das fases imaturas foi mais curta do que a de ambas as espécies de tricogramatídeos, indo apenas de 24 a 33 °C. Para finalizar, a constante térmica e a temperatura base de *T. remus* foram superiores às das demais espécies de parasitoides, o que ficou claro diante do retardamento com que

seus adultos emergiram com relação aos adultos dos tricogramatídeos. Assim, *T. remus* desenvolveu-se numa faixa térmica mais restrita, destacando-se, portanto como a espécie mais exigente, dentre as três estudadas, no que diz respeito às necessidades térmicas.

No presente trabalho, machos e fêmeas de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* se desenvolveram em períodos de tempo semelhantes, emergindo ao mesmo tempo em todas as temperaturas testadas, o que mostrou a não necessidade de se realizarem cálculos específicos do período ovo-adulto para cada sexo. No caso de *T. remus*, o quadro foi diferente, havendo assincronia na emergência de machos e fêmeas em determinadas temperaturas, com machos emergindo 0,4 dia (aproximadamente 10h) antes das fêmeas nas temperaturas de 24 e 30°C. É possível que tal variação seja consequência do intervalo entre as avaliações que, dependendo de seu comprimento, possa não detectar diferenças entre os períodos de emergência de machos e fêmeas.

Neste trabalho, a razão sexual das três espécies de parasitoides estudadas não sofreu influência da temperatura. Os relatos de efeitos da temperatura sobre a razão sexual de espécies de parasitoides de ovos têm sido bastante variáveis na literatura. Para *T. pretiosum*, por exemplo, a temperatura afetou a razão sexual da prole quando criada em ovos de *Pseudoplusia includens* (maior proporção de machos a 18°C) e *Anticarsia gemmatalis* (maior proporção de fêmeas a 18°C) (BUENO et al., 2009), mas não quando criada em ovos de *S. frugiperda* (BUENO et al., 2010). Nestes estudos, os autores utilizaram a mesma linhagem de *T. pretiosum*, designada como *T. pretiosum* RV (coletada na cidade de Rio Verde, GO). Resultados semelhantes foram obtidos por Pratissoli e Parra (2000) ao criarem uma linhagem de *T. pretiosum* sobre ovos de duas espécies de hospedeiros. Estes autores constataram que a temperatura afetou razão sexual da prole criada em *Phthorimaea operculella* (maior proporção de machos a 18°C), mas não da criada em *Tuta absoluta*. É sabido que a razão sexual, assim como outros parâmetros biológicos, podem variar bastante entre linhagens de uma mesma espécie de *Trichogramma* (PRATISSOLI et al., 2006). Contudo, os estudos apresentados por estes autores atestam que para uma dada linhagem, a temperatura pode gerar efeitos distintos sobre a razão sexual da prole, a depender do hospedeiro utilizado, indicando que estes efeitos não estão diretamente ligados à linhagem

utilizada, mas provavelmente à qualidade do hospedeiro, que poderia afetar mais um sexo do que outro.

O superparasitismo pode afetar a aptidão (“fitness”) dos adultos emergidos, já que estes terão seu tamanho reduzido pelo compartilhamento dos recursos nutricionais do hospedeiro (OLSON; ANDOW, 1998; BAI et al., 1992). No caso de *T. remus*, o auto-superparasitismo foi praticamente nulo em estudo de laboratório (vide Capítulo 4). Assim, a emergência de apenas um adulto por ovo hospedeiro foi devida à colocação de apenas um ovo de *T. remus* por ovo hospedeiro. Para as demais espécies, o auto-superparasitismo foi muito mais frequente e as diferenças entre os números de adultos emergidos por ovo nas diferentes temperaturas provavelmente são resultado das diferenças na viabilidade dos ovos dos tricogramatídeos nas diferentes temperaturas, já que a $27\pm 1^\circ\text{C}$, o número de adultos emergidos por ovo hospedeiro corresponde exatamente ao número de ovos colocados em cada ovo, por estas espécies (vide Capítulo 4). Ovos de *S. frugiperda* possuem aproximadamente 1,5 vezes o volume de ovos de *Anagasta kuehniella* (CÔNSOLI; KITAJIMA; PARRA, 1999), espécie que, de acordo com Dias, Parra e Dias (2010), é a mais adequada para servir como hospedeira alternativa das espécies brasileiras de *Trichogramma*. Sendo maiores, provavelmente os ovos de *S. frugiperda* poderão suprir as necessidades nutricionais de *T. atopovirilia* e de *T. pretiosum* mesmo em condições de superparasitismo, sem que a aptidão dos adultos emergidos seja reduzida. Contudo, há necessidade de realização de estudos para que esta hipótese seja testada.

No Brasil, o cultivo do milho se encontra nas regiões Centro-oeste, Sudeste e, principalmente, na região Sul, que sozinha contribui com 43% da produção nacional (GARCIA et al., 2006). Sudeste e Centro-oeste são caracterizados por clima tropical, enquanto a região Sul é caracterizada por clima subtropical ou temperado, sendo nela onde ocorrem as temperaturas mais baixas do país. Assim, das três espécies de parasitoides aqui estudadas, *T. atopovirilia*, sendo tolerante tanto às temperaturas mais baixas quanto às mais elevadas, provavelmente é a que apresenta maior potencial de aplicação nestas três regiões produtoras; enquanto as demais, principalmente *T. remus*, terão maior probabilidade de alcançar sucesso apenas nas regiões mais de clima mais quente. Obviamente, para que se possa chegar a resultados conclusivos, deve-se

considerar também a interação de insetos adultos com a temperatura, já que a sua movimentação, longevidade e taxa de parasitismo podem ser fortemente afetadas por esta variável climática.

Vários fatores podem afetar a eficiência de parasitóides de ovos em condições de campo (PINTO; PARRA, 2002), especialmente os climáticos (STILING, 1993), dentre os quais a temperatura está entre os principais (PINTO et al., 2003). Assim, ao identificarem-se as faixas de temperatura ótimas para o desenvolvimento de *T. remus*, *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*, o presente estudo veio a contribuir para a determinação do potencial destas espécies como agentes de controle biológico de *S. frugiperda*, ao mesmo tempo que aponta *T. atopovirilia* como a espécie de necessidades térmicas mais adequadas às principais regiões produtoras de milho no Brasil.

3.5 Conclusão

Trichogramma atopovirilia Oatman & Platner 1983 é, dentre as três espécies de parasitoides estudadas, a que apresenta mais ampla faixa térmica para desenvolvimento ótimo, podendo se desenvolver com sucesso em diferentes condições de temperatura.

Referências

- 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**. Endinburgh, v. 64, p. 37-48, 1992.
- BESERRA, E.B.; PARRA, J.R.P. Impact of the number of *Spodoptera frugiperda* egg layers on parasitism by *Trichogramma atopovirilia*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, p. 190-193, 2005.
- BESERRA, E.B.; DIAS, C.T.S.; PARRA, J.R.P. Distribution and natural parasitism of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs at different phenological stages of corn. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 85, p. 588-593, 2002.
- BOTELHO, P.S. Eficiência de *Trichogramma* em campo. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997. p. 306-318.

BUENO, R.C.O.F.; PARRA, J.R.P.; BUENO, A.F. Biological characteristics and thermal requirements of a Brazilian strain of the parasitoid *Trichogramma pretiosum* reared on eggs of *Pseudoplusia includens* and *Anticarsia gemmatalis*. **Biological Control**, San Diego, v. 51, p. 355-361, 2009.

BUENO, R.C.O.F.; BUENO, A.F.; PARRA, J.R.P.; VIEIRA, S.S.; OLIVEIRA, L.J. de. Biological characteristics and parasitism capacity of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) on eggs of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 54, p. 322-327, 2010.

CAVE, R.D. Biology, ecology and use in pest management of *Telenomus remus*. **Biocontrol News and Information**, Wallingford, v. 21, p. 21-26, 2000.

CÔNSOLI, F.L.; 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 Embriology**, Oxford, v. 28, p. 211-229, 1999.

DIAS, N.S.; PARRA, J.R.P.; DIAS, C.T.S. Tabela de vida de fertilidade de três espécies neotropicais de Trichogrammatidae em ovos de hospedeiros alternativos como critério de seleção hospedeira. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 54, p. 120-124, 2010.

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. Milho. In: _____. **Agrianual 2010: anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: AgraFNP, 2010. p. 401-427.

GARCIA, J.C.; MATTOSO, M.J.; DUARTE, J.O.; CRUZ, J.C. **Aspectos econômicos da produção e utilização do milho**. Sete Lagoas: Embrapa CNPMS, 2006. 12 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 74).

GAZIT, Y.; LEWIS, W.J.; TUMLINSON, J.H. Arrestment of *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae) by a kairomone associated with eggs of its host, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Biological Control**, San Diego, v. 6, p. 283-290, 1996.

GERLING, D. Adult biology of *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae). **Entomophaga**, Paris, v. 19, p. 482-492, 1974.

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 de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1984. 12 p. (Agricultura e Desenvolvimento).

HASSAN, S.A. Seleção de espécies de *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997. p. 183-206.

LEIDERMAN, L.; SAUER, H.F.G. A lagarta dos milharais *Laphygma frugiperda* (Abott & Smith, 1797). **O Biológico**, São Paulo, v. 19, p. 105-113, 1953.

MELO, R.L.; PRATISSOLI, D.; POLANCZYK, R.A.; MELO, D.F.; BARROS, R.; MILANEZ, A.M. Biologia e exigências térmicas de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Diaphania hyalinata* L. (Lepidoptera: Pyralidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 36, p. 431-435, 2007.

MOLINA-OCHOA, J.; CARPENTER, J.E.; HEINRICHS, E.A.; FOSTER, J.E. Parasitoids and parasites of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas and Caribbean basin: an inventory. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 86, p. 254-289, 2003.

ODUM, P.E.; BARRET, G.W. **Fundamentos de ecologia**. 5. ed. São Paulo: Thomson, 2007. 612 p.

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**, College Park, v. 27, p. 508-514, 1998.

PARRA, J.R.P.; KOVALESKI, A. Avanços no Manejo Integrado de Pragas (MIP) no Brasil. In: PATERNIANI, E. (Ed.). **Ciência, agricultura e sociedade**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. p. 75-112.

PARRA, J.R.P.; OMOTO, C. Cada vez mais terríveis. **Cultivar**, Pelotas, v. 6, p. 18-20, 2004.

PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. *Trichogramma* in Brazil: feasibility of use after twenty years of research. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, p. 271-281, 2004.

PINTO, A.S.; PARRA, J.R.P. Liberação de inimigos naturais. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Org.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 325-342.

PINTO, A.S.; PARRA, J.R.P.; OLIVEIRA, H.N. de. **Guia ilustrado de pragas e insetos benéficos do milho e sorgo**. Ribeirão Preto: A.S. Pinto, 2004. 108 p.

PINTO, A.S.; PARRA, J.R.P.; OLIVEIRA, H.N. de; ARRIGONI, E.B. Comparação de técnicas de liberação de *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, p. 311-318, 2003.

PRATISSOLI, D.; PARRA, J.R.P. Desenvolvimento e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley, criados em duas traças do tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, p. 1281-1288, 2000.

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

ROSSI, M.M. As interrupções de desenvolvimento em *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997. p. 151-172.

ROTHSCHILD, G.H.L. Parasites of rice stemborers in Sarawak (Malaysian Borneo), **Entomophaga**, Paris, v. 15, p. 21-51, 1970.

STILING, P. Why do natural enemies fail in classical biological control programs? **American Entomologist**, College Park, v. 39, p. 31-37, 1993.

TALAMINI, D.J.D.; MARTINS, F.M.; NOVAES, M. Produção e mercado nacional e internacional do frango. **Avicultura Industrial – Anuário 2006**, Iltu, v. 97, ed. 1140, p. 20-25, 2005.

VILELA, E.F.; FERNANDES, J.B.; PARRA, J.R.P.; MOSCARDI, F.; RABINOVITCH, L. (Ed.). **Controle biológico e feromônios de insetos no âmbito do agronegócio**. Viçosa: CNPq; EMBRAPA, 1998. 74 p.

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

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. p. 121-150.

4 COMPETIÇÕES INTRA E INTERESPECÍFICAS DE PARASITÓIDES DE OVOS DE *Spodoptera frugiperda*

Resumo

Competição entre inimigos naturais é um fator-chave na dinâmica de populações de pragas. Apesar disso, há poucos estudos que consideram as interações intra-guilda envolvendo parasitóides de ovos. Neste trabalho foram explorados os efeitos das competições intra e interespecíficas sobre o comportamento e sobrevivência de três espécies de parasitóides de ovos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae): *Telenomus remus* Nixon 1937 (Hymenoptera: Scelionidae), *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner 1983 e *T. pretiosum* Riley 1879 (Hym.: Trichogrammatidae). As três espécies foram liberadas em uma arena contendo ovos de *S. frugiperda*, em duplas combinadas intra ou interespecificamente, e seu comportamento foi observado por 30 minutos. As três espécies de parasitoides tiveram seus comportamentos de forrageamento afetados pela competição, embora o efeito deste fator tenha sido peculiar para cada uma delas. Os parâmetros tempo gasto com “exame interno do hospedeiro + oviposição”, número mínimo de exames necessário para que todos os ovos oferecidos fossem parasitados, número total de exames realizados, tempo longe da postura, região da postura preferida para exame interno e oviposição, número de ovos inexplorados e número de ovos colocados por hospedeiro foram afetados pelas competições intra e/ou interespecíficas. *T. pretiosum* foi mais tolerante à competição do que as demais espécies de parasitoides estudadas. A taxa de mortalidade de imaturos não foi afetada pela competição. Fêmeas de *T. remus* reconheceram ovos parasitados por elas próprias, evitando superparasitismo; contudo, não reconheceram ou não evitaram ovos já parasitados por co ou hétero-específicas. Ovos superparasitados originaram apenas um adulto de *T. remus*. Já em hospedeiros multiparasitados, *T. pretiosum* competiu em nível de igualdade com *T. remus*, que por sua vez foi dominado na competição por *T. atopovirilia*. A competição interna entre as duas espécies de *Trichogramma* também foi equilibrada e metade dos ovos multiparasitados deu origem a adultos das duas espécies. Este trabalho revela resultados inéditos de como o fator competição afeta o comportamento de forrageamento de parasitóides de ovos não agressivos. Além disso, esta é a primeira vez que as taxas de emergência conjunta de duas espécies de *Trichogramma* a partir de um único ovo hospedeiro são apresentadas.

Palavras-chave: Interação intra-guilda; Comportamento; *Telenomus remus*, *Trichogramma atopovirilia*; *T. pretiosum*

Abstract

Competition between natural enemies is a key factor in the population dynamics of pests, although little attention has been given to intra-guild interactions between egg parasitoids. This study explored the effects of intra- and interspecific

competition on the behavior and survivorship of three species of wasps that parasitize the eggs of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae): *Telenomus remus* Nixon 1937 (Hymenoptera: Scelionidae), *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner 1983, and *T. pretiosum* Riley 1879 (Hym.: Trichogrammatidae). The parasitoids were combined in pairs of the same or different species, and then released in the center of an arena containing *S. frugiperda* eggs. Parasitoid behavior was observed for 30 minutes. Foraging behavior of all parasitoid species was affected by competition, although this effect differed for each parasitoid species. The parameters: time spent in “host internal examination + oviposition”, minimal number of hosts drilled until all host eggs were examined, total number of host drills, time spent away from patch, preferred patch region for host-drilling and oviposition, number of unexplored host eggs, and number of eggs laid/host egg were all affected by intra- and/or interspecific competition. Females of *T. pretiosum* were more tolerant of competition than the other parasitoid species. The mortality rate of immatures was not affected by competition. Females of *T. remus* recognized host eggs parasitized by themselves, and oviposited only one egg per host egg; on the other hand, they did not recognize or did not avoid host eggs already parasitized by co- or heterospecific females. Superparasitized host eggs gave rise to only one adult of *T. remus*. In multiparasitized host eggs, both *T. pretiosum* and *T. remus* competed symmetrically, while *T. atopovirilia* outcompeted *T. remus*. Intrinsic competition between both *Trichogramma* species was also symmetrical, and half the multiparasitized host eggs gave rise to adults of both parasitoid species. This study reveals for the first time how competition affects the foraging behavior of non-aggressive egg parasitoids. This is probably the first time that rates of joint emergence of two *Trichogramma* species from a single host egg are reported.

Keywords: Intraguild interaction; Behavior; *Telenomus remus*; *Trichogramma atopovirilia*; *Trichogramma pretiosum*

4.1 Introdução

Parasitoides de ovos passam toda sua fase imatura no interior de hospedeiros. Enquanto se desenvolvem estão extremamente vulneráveis à ação de competidores, já que não podem se locomover em busca de um novo ovo.

Competição é a interação de dois organismos que disputam o mesmo recurso (ODUM; BARRET, 2007). Ela pode ocorrer entre adultos de parasitoides na busca de hospedeiros (competição externa) e entre larvas de parasitoides se desenvolvendo dentro de um único hospedeiro (competição interna) (GODFRAY, 1994). De acordo com Fisher (1961), quando vários indivíduos de uma mesma espécie compartilham um mesmo hospedeiro, o fenômeno é conhecido como superparasitismo; quando os indivíduos são de espécies diferentes, então é chamado de multiparasitismo.

Em agroecossistemas é comum a presença de múltiplas espécies de parasitoides competindo por um ou mais hospedeiros (MANDOUR et al., 2008; YAMAMOTO et al., 2007; BESERRA; DIAS; PARRA, 2002; PETCHARAT et al., 2002). Bográn, Heinz e Ciomperlik (2002) consideraram que a competição entre espécies de parasitoides pode ser um fator chave na dinâmica de uma comunidade envolvendo o sistema planta-herbívoro-parasitoide e possui um importante papel na seleção e manejo de agentes de controle biológico.

Telenomus remus Nixon 1937 (Hymenoptera: Scelionidae), *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner 1983 e *T. pretiosum* Riley 1879 (Hym.: Trichogrammatidae) são parasitoides de ovos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), principal praga do milho no Brasil. *T. remus* foi introduzido no Brasil há 25 anos visando ao controle de *S. frugiperda* e os relatos mais recentes referem sua presença em catorze países das Américas e Caribe (MOLINA-OCHOA et al., 2003). *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* são espécies naturalmente encontradas em agroecossistemas brasileiros, apesar de ser impossível afirmar se elas são nativas do Brasil, devido à introdução de espécies no país visando a programas de controle biológico (ZUCCHI; MONTEIRO, 1997; ZUCCHI; QUERINO; MONTEIRO, 2010). Em um estudo realizado por Beserra, Dias e Parra (2002), onde ovos de *S. frugiperda* foram coletados em cultivos de milho em três estádios fenológicos da cultura, as espécies *T. pretiosum* e *T. atopovirilia* constituíram, respectivamente, cerca de 94 e 2% dos espécimens de *Trichogramma* obtidos. Segundo Beserra e Parra (2005), *T. remus* e *T. atopovirilia* são inimigos naturais que têm potencial para controlar *S. frugiperda*. Este último, juntamente com *T. pretiosum*, já vem sendo liberado em 60 mil ha de milho no Brasil, para controle deste inseto-praga (PARRA; KOVALESKI, 2006; PARRA; ZUCCHI, 2004).

Comportamentos agressivos/intimidadores entre fêmeas de Scelionidae desencadeados pela exploração de hospedeiros têm sido comumente relatados (MAHMOUD; LIM, 2008; SUJII et al., 2002; BIN; JOHNSON, 1982). Apesar disso, ao estudarem a biologia de adultos de *T. remus*, Schuartz e Gerling (1974) não observaram nenhuma evidência deste tipo de comportamento entre fêmeas que compartilhavam uma mesma massa de ovos. Da mesma forma, observações de

laboratório têm demonstrado que fêmeas de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* não apresentam tais comportamentos e nem tampouco cuidado parental. Talvez por isso, em condições de campo, seja comum a ocorrência de posturas de *S. frugiperda* parasitadas simultaneamente por *T. atopovirilia* e por *T. pretiosum* (BESERRA; DIAS; PARRA, 2002); contudo, a ocorrência de multiparasitismo envolvendo estas duas espécies ainda não foi relatada.

Os efeitos de um encontro entre duas fêmeas não agressivas que compartilham uma mesma massa de ovos (“patch”) sobre seus comportamentos de forrageamento têm sido negligenciados. Assim, ainda não se sabe se a competição externa por hospedeiros pode causar modificações comportamentais em parasitoides de ovos não agressivos. Ainda, resultados da competição interna entre espécies de *Trichogramma* são igualmente escassos. Desta forma, os objetivos deste trabalho foram determinar os efeitos das competições externa e interna sobre o comportamento de forrageamento e sobrevivência de parasitoides não agressivos, utilizando como modelo o sistema *T. remus*, *T. atopovirilia*, *T. pretiosum* e *S. frugiperda*.

4.2 Material e métodos

4.2.1 Procedimentos gerais

Oito ovos de *S. frugiperda* recém-colocados (<12h) foram fixados em cartelas (1x1 cm) de papel sulfite, de acordo com a configuração mostrada na Figura 4.1. Inicialmente, utilizou-se papel sulfite novo (nunca antes usado); todavia, após uma série de tentativas utilizando este material sem sucesso no parasitismo, testaram-se cartelas elaboradas com papel sulfite advindo das gaiolas de criação de adultos de *S. frugiperda*, ou seja, o mesmo papel onde as fêmeas ovipositaram. Provavelmente por conter semioquímicos deixados pelas mariposas e utilizados pelos parasitoides como pistas na busca de hospedeiros (GAZIT; LEWIS; TUMLINSON, 1996) este papel mostrou-se bem mais adequado à realização dos estudos de competição, diminuindo consideravelmente o tempo gasto por cada espécie de parasitoide para encontrar os ovos de *S. frugiperda* presentes em cada cartela.

Ovos de *S. frugiperda*, advindos de uma criação em dieta artificial, conforme descrito no Capítulo 2 (item 2.3.1), foram extraídos cuidadosamente da folha de papel

sulfite onde foram colocados pelas mariposas, com auxílio de um pincel fino (n° 000). Apesar das fêmeas de *S. frugiperda* ovipositarem formando massas de ovos (posturas), geralmente em duas ou três camadas, a fricção do pincel com os ovos os destaca facilmente da massa original, individualizando-os. Após este procedimento, os ovos foram fixados artificialmente na região central de cada cartela, utilizando-se o pincel umedecido em água destilada. A distribuição dos ovos mostrada na Figura 4.1 foi escolhida por apresentar ovos localizados em duas regiões: central e periférica, tornando a postura mais parecida a uma natural.



Figura 4.1 - Distribuição dos ovos de *Spodoptera frugiperda* em cartela de papel sulfite (1x1 cm). A postura foi configurada artificialmente utilizando-se oito ovos recém-colocados (<12h), fixados na região central de cada cartela, com auxílio de um pincel e água destilada

Após a confecção das cartelas contendo ovos, foram iniciados os testes. Cada cartela foi colocada no centro de uma placa de Petri (5cm de diâmetro) anteriormente lavada com álcool 92%. A placa contendo a cartela foi colocada em microscópio estereoscópico acoplado a um sistema de filmagem digital. Fêmeas de *T. remus*, *T. pretiosum* e *T. atopovirilia* foram então liberadas na placa de Petri individualmente ou em duplas combinadas co ou hétero-especificamente (Tabela 4.1). Os testes foram iniciados assim que cada fêmea entrou em contato com um dos oito ovos da cartela. Neste momento, o dispositivo de filmagem foi ligado e o comportamento das fêmeas foi registrado por 30 minutos ou até que elas abandonassem a placa de Petri. Utilizaram-se fêmeas criadas em ovos de *S. frugiperda*

a $24\pm 1^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ de UR e 14 horas de fotofase, com 1 a 3 dias de idade, sem experiência de oviposição (“naïve”), acasaladas e alimentadas com mel de abelha puro.

Após os 30 minutos de observação, a gravação foi interrompida e os parasitoides foram eliminados. Então, com auxílio de pincel fino e água destilada, quatro dos oito ovos de *S. frugiperda* presentes em cada cartela, incluindo o ovo central, foram imediatamente individualizados e dissecados sob microscópio visando à contagem dos ovos dos parasitoides. Os quatro ovos restantes de *S. frugiperda* foram também separados e fixados individualmente em novas cartelas de 1x1 cm, sendo cada uma acondicionada em um tubo de vidro (1,2x 7cm), fechado com filme de PVC e mantidas em sala climatizada ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ de U.R. e 14 horas de fotofase) até a emergência dos parasitoides. Assim que isso ocorreu, os adultos emergidos foram contados e o registro do sexo e espécie emergida foi realizado.

As gravações foram iniciadas entre 7 e 8h da manhã (correspondendo à segunda e terceira hora da fotofase), finalizando-se entre 13 e 14h. Todas as combinações de espécies foram testadas seqüencialmente, num único dia, totalizando 4,5 horas de gravações por dia. Este procedimento foi repetido 21 vezes, durante 21 dias, totalizando 94 horas de gravações.

Neste estudo, cada combinação de parasitoides constituiu um tratamento e, visando a submetê-los todos às mesmas condições ambientais (temperatura, luz e umidade) e fisiológicas (idade dos parasitoides, estágio de desenvolvimento e viabilidade dos ovos de *S. frugiperda*), todas as combinações foram testadas num único dia e com o mínimo de intervalo entre uma e outra, já que o teste simultâneo mostrou-se inviável devido à quantidade de tratamentos e à limitação de material de filmagem.

No estudo da competição externa, durante as análises das gravações registraram-se, para cada fêmea, os tempos gastos em (a) exame externo do hospedeiro, (b) exame interno + oviposição, (c) marcação e (d) abandono da postura (“patch”) (saída da fêmea da superfície da massa de ovos por mais de cinco segundos); (e) o número mínimo de inserções com o ovipositor até que toda a postura fosse explorada; (f) total de inserções nos 30 minutos de observação; (g) número de abandonos da postura; (h) total de ovos não explorados; e (i) número de oviposições por ovo hospedeiro.

Tabela 4.1 - Combinações utilizadas nos testes de competição intra e interespecíficas dos parasitoides de ovos de *Spodoptera frugiperda*, ou seja, o esclionídeo *Telenomus remus* e os tricogramatídeos *Trichogramma atopovirilia* e *T. pretiosum*

Tipo de interação	Espécie(s)	Número de indivíduos de cada espécie liberados por cartela
Sem interação	<i>Telenomus remus</i>	1
	<i>Trichogramma atopovirilia</i>	1
	<i>Trichogramma pretiosum</i>	1
Interação intra-específica	<i>T. remus</i>	2
	<i>T. atopovirilia</i>	2
	<i>T. pretiosum</i>	2
Interação interespecífica	<i>T. remus + T. atopovirilia</i>	1
	<i>T. remus + T. pretiosum</i>	1
	<i>T. atopovirilia + T. pretiosum</i>	1

Na competição interna, registraram-se (1) o número de ovos dos parasitoides por ovo hospedeiro; (2) número, (3) espécie e (4) sexo dos adultos emergidos por ovo; e (5) o número de adultos não emergidos + ovos inviáveis (que não originaram nem parasitoides e nem lagartas, exibindo escurecimento e perda de volume ao final das observações). O valor do número de ovos de cada parasitoide por ovo hospedeiro constituiu-se da média de ovos encontrada nos quatro hospedeiros dissecados. Nos casos de competição intraespecífica, a média dos quatro hospedeiros foi dividida por dois, uma vez que, neste caso, o número de ovos obtido correspondia a duas fêmeas. Pela dissecação não foi possível a diferenciação entre ovos das duas espécies de *Trichogramma* estudadas. Por isso, para os testes de competição entre *T. pretiosum* e *T. atopovirilia*, o parâmetro número de ovos não foi considerado.

4.2.2 Análise dos dados

Para conjuntos de dados com distribuição normal e homocedásticos, aplicou-se ANOVA, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ($\alpha=0,05$). Para os

demais casos, foi empregado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, sendo as médias comparadas pelo método de Dunn ($\alpha=0,05$).

4.3 Resultados

4.3.1 Competição externa

4.3.1.1 *Telenomus remus*

Dos onze parâmetros comportamentais avaliados, seis deles foram afetados pela presença de competidoras. Fêmeas em competição com co ou hétero-específicas gastaram maior tempo na etapa de “exame interno + oviposição” do que as fêmeas solitárias (Kruskal-Wallis, $p<0,001$), que foram aproximadamente 10 segundos mais rápidas. Apesar disso, a competição não afetou o tempo gasto nas etapas de “exame externo” (Kruskal-Wallis, $p=0,8$) e de “marcação” (Kruskal-Wallis, $p=0,56$) dos hospedeiros (Figura 4.2).

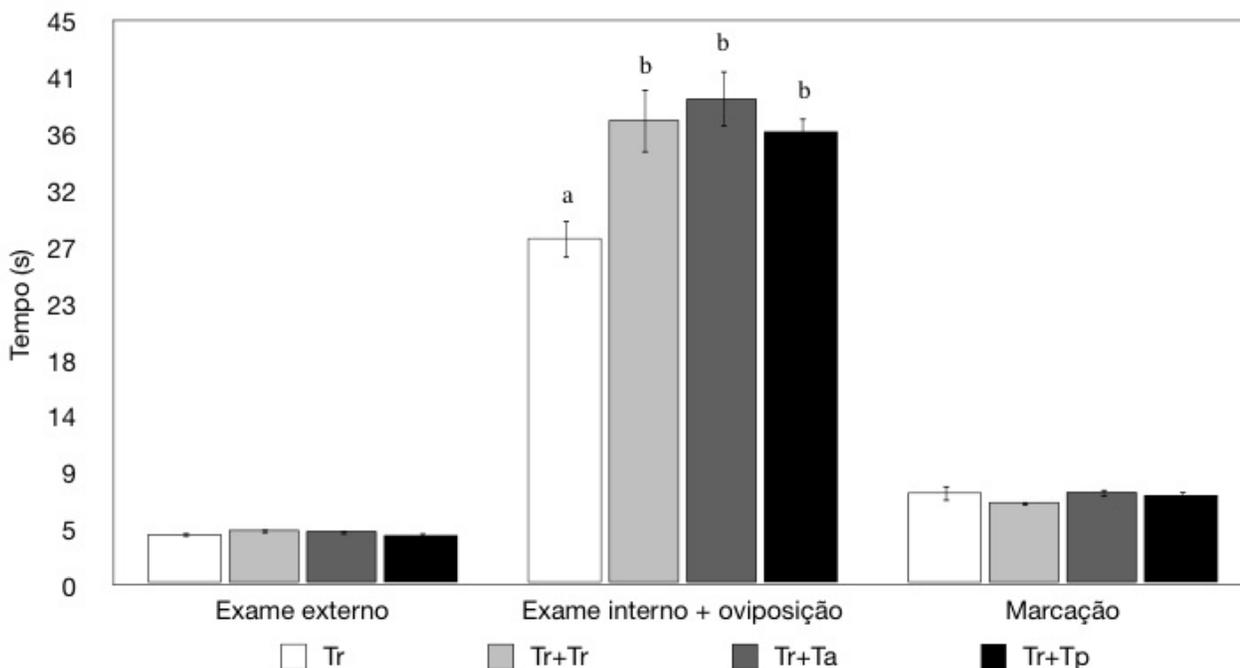


Figura 4.2 - Tempo (segundos) gasto por fêmeas de *Telenomus remus* nas etapas de “exame externo”, “exame interno + oviposição” e “marcação”, durante o processo de forrageamento de ovos de *Spodoptera frugiperda*, em ambientes com e sem presença de competidoras ($27\pm 2^{\circ}\text{C}$, $60\pm 20\%$, observações realizadas entre a segunda e nona hora da fotofase). Letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (Kruskal-Wallis - Exame externo, $p=0,8$; Exame interno + oviposição, $p<0,001$; Marcação, $p=0,56$). Tr=*T. remus*, Ta=*Trichogramma atopovirilia* e Tp= *T. pretiosum*

A frequência de abandono da postura não sofreu alterações com a competição (ANOVA, $p=0,59$). Todavia, a presença de competidoras fez com que as fêmeas de *T. remus* o abandonassem por mais tempo (Kruskal-Wallis, $p<0,0001$, Figura 4.3).

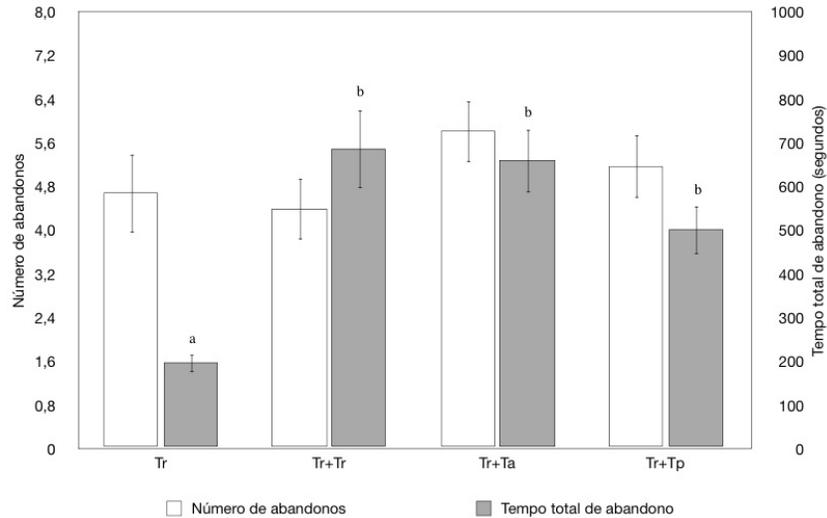


Figura 4.3 - “Número de abandonos” e “tempo total de abandono” (segundos) de hospedeiros por fêmeas de *Telenomus remus*, em ambientes com e sem presença de competidoras ($27\pm 2^{\circ}\text{C}$, $60\pm 20\%$, observações realizadas entre a segunda e nona hora da fotofase). Comparações apenas entre colunas de mesma cor. Letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (Número de abandonos: ANOVA, $p=0,59$; Tempo total de abandono: Kruskal-Wallis, $p<0,0001$). Tr=*T. remus*, Ta=*Trichogramma atopovirilia* e Tp=*T. pretiosum*

A competição intra-específica fez com que *T. remus* necessitasse examinar mais ovos para que todos os hospedeiros disponibilizados fossem explorados (examinados internamente, com ou sem oviposição) (Kruskal-Wallis, $p=0,008$) (Figura 4.4). Já o total de exames caiu significativamente quando uma competidora de qualquer espécie foi adicionada (ANOVA, $p=0,0005$) (Figura 4.4).

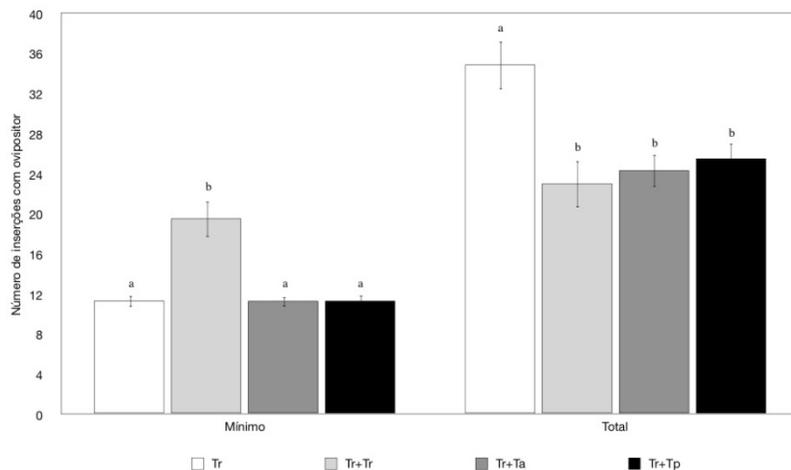


Figura 4.4 - “Número mínimo de inserções com ovipositor” realizado por fêmeas de *Telenomus remus* até que todos os hospedeiros disponíveis (oito ovos de *Spodoptera frugiperda*) fossem explorados; e “total de inserções” realizadas em todo o período de observação (30 min.); em ambientes com e sem presença de competidoras ($27\pm 2^{\circ}\text{C}$, $60\pm 20\%$, observações realizadas entre a segunda e nona hora da fotofase). Letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (Kruskal-Wallis - Mínimo: $p=0,008$; Total: $p=0,0005$). Tr=*T. remus*, Ta=*Trichogramma atopovirilia* e Tp= *T. pretiosum*

Das posturas que não foram totalmente exploradas, foi também na competição intraespecífica onde observou-se maior número de hospedeiros inexplorados (Kruskal-Wallis, $p<0,0001$) (Figura 4.5).

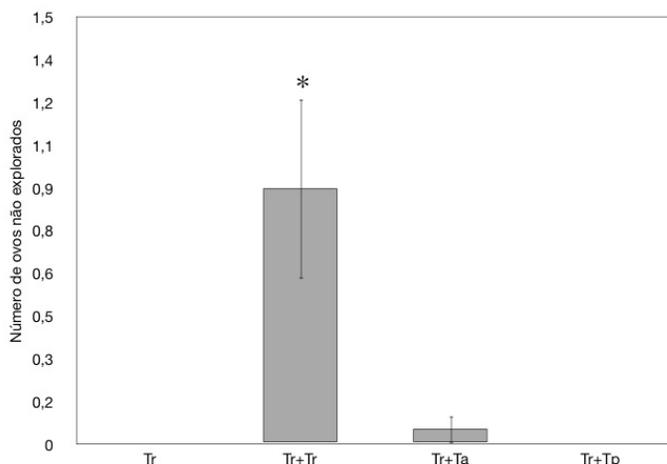


Figura 4.5 - Número de hospedeiros (ovos de *Spodoptera frugiperda*) inexplorados (não examinados internamente e/ou tampouco ovipositados) por fêmea de *Telenomus remus* em 30 minutos; em ambientes com e sem presença de competidoras ($27\pm 2^{\circ}\text{C}$, $60\pm 20\%$, observações realizadas entre a segunda e nona hora da fotofase). Asterisco indica diferenças significativas entre os tratamentos (Kruskal-Wallis, $p<0,0001$). Tr=*T. remus*, Ta=*Trichogramma atopovirilia* e Tp= *T. pretiosum*

O número de ovos depositados por *T. remus* em cada ovo hospedeiro não foi afetado por nenhum dos tipos de competição (Kruskal-Wallis, $p=0,714$) (Figura 4.6).

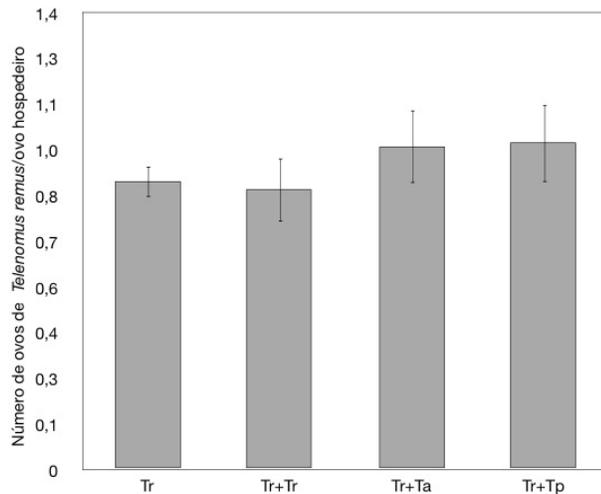


Figura 4.6 - Número ovos colocados por uma fêmea de *Telenomus remus* em cada ovo hospedeiro (*Spodoptera frugiperda*), em ambientes com e sem presença de competidoras. Parasitismo permitido por 30 minutos ($27\pm 2^\circ\text{C}$, $60\pm 20\%$, observações realizadas entre a segunda e nona hora da fotofase). Em “Tr+Tr” (competição intra-específica), a coluna representa o número de ovos encontrados por hospedeiro dividido por dois (número de fêmeas liberadas). Não foram constatadas diferenças significativas entre os tratamentos (Kruskal-Wallis, $p=0,71$). Tr=*T. remus*, Ta=*Trichogramma atopovirilia* e Tp= *T. pretiosum*

A forma como as fêmeas de *T. remus* exploraram as regiões central e periférica da massa de hospedeiros foi afetada pelo tipo de competição. Fêmeas solitárias e em competição intra-específica, realizaram maior número de inserções com o ovipositor em hospedeiros localizados na região central da postura (Kruskal-Wallis, $p<0,01$), o que não aconteceu com fêmeas em competição interespecífica (Kruskal-Wallis, $p=0,17$). Entretanto, apesar de fêmeas solitárias e em competição com co-específica desta espécie preferirem inserir o ovipositor em hospedeiros localizados na região central, não foram constatadas diferenças significativas no número de ovos colocados nas duas regiões, o que prova que para a oviposição não houve região preferida (Figura 4.7).

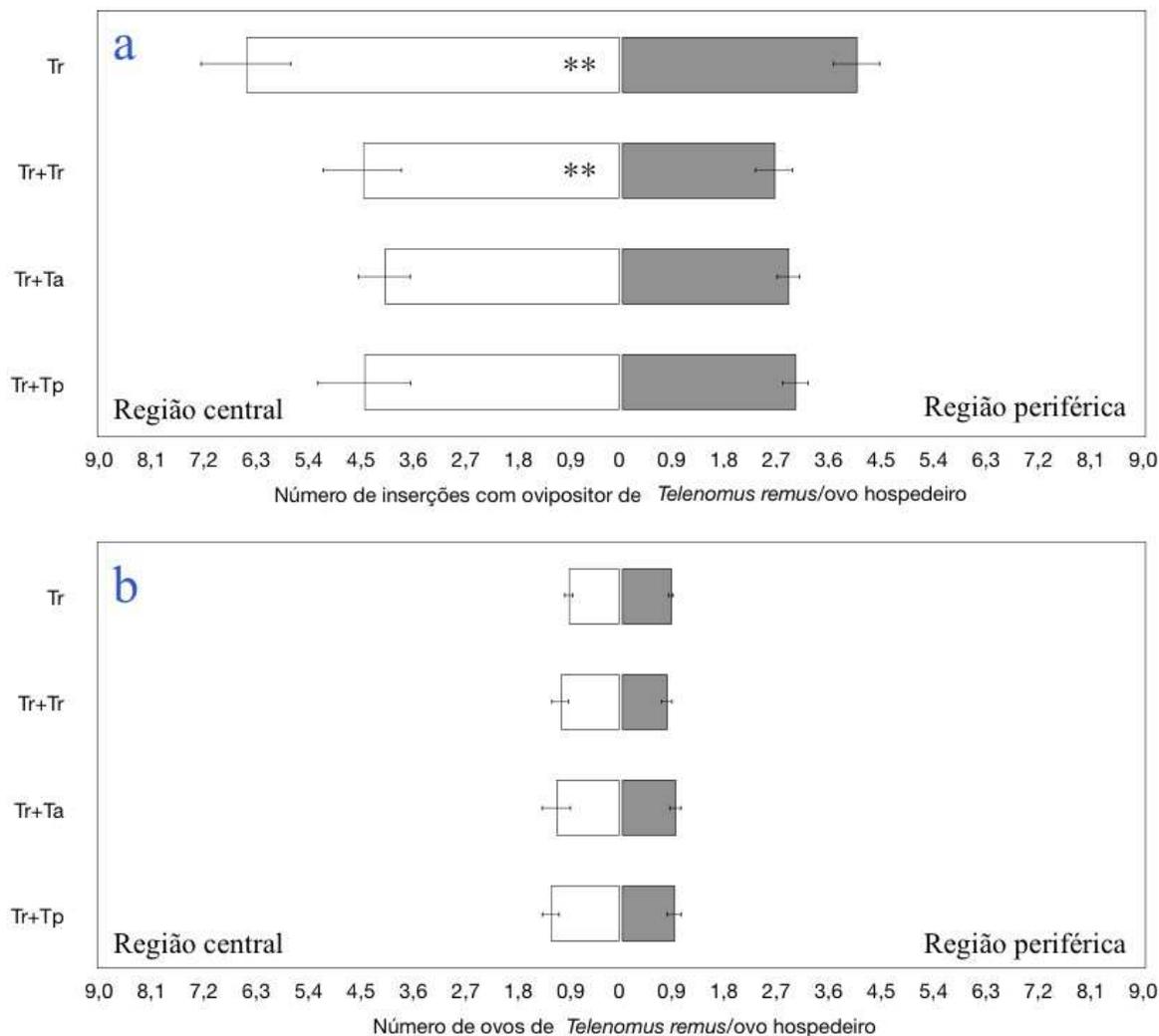


Figura 4.7 - Número de inserções com o ovipositor (a) e ovos colocados (b) por fêmeas de *Telenomus remus* em hospedeiros (*Spodoptera frugiperda*) localizados na região central e periférica da massa de ovos; em ambientes com e sem presença de competidoras. Parasitismo permitido por 30 minutos ($27\pm 2^{\circ}\text{C}$, $60\pm 20\%$, observações realizadas entre a segunda e nona hora da fotofase). Asteriscos indicam diferença significativa entre as regiões dentro de cada combinação de parasitoides (Kruskal-Wallis, $**p\leq 0,01$). Tr=*T. remus*, Ta=*Trichogramma atopovirilia* e Tp= *T. pretiosum*

4.3.1.2 *Trichogramma atopovirilia*

Para esta espécie, a presença de uma competidora co-específica fez com que o tempo investido em “exame interno + oviposição” fosse significativamente diminuído quando comparado com fêmeas individualizadas ou em competição com *T. remus* (Kruskal-Wallis, $p=0,008$). Todavia, o tempo observado na competição intraespecífica não diferiu significativamente daquele encontrado na competição com o

co-genérico *T. pretiosum*. Para completar, de forma análoga ao constatado para *T. remus*, co e hétero-competidoras não afetaram os parâmetros “exame externo” e “marcação” de *T. atopovirilia* (ANOVA - exame externo, $p=0,55$; marcação, $p=0,57$) (Figura 4.8).

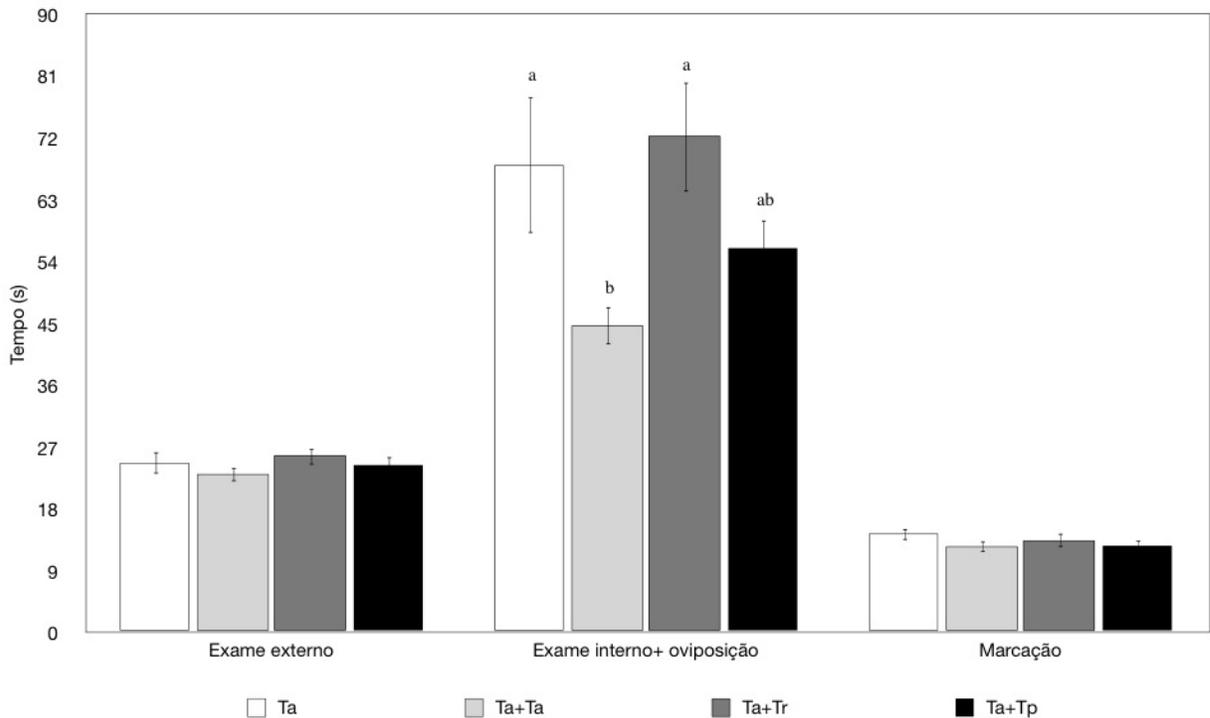


Figura 4.8 - Tempo (segundos) gasto por fêmeas de *Trichogramma atopovirilia* nas etapas de “exame externo”, “exame interno + oviposição” e “marcação”, durante o processo de forrageamento de ovos de *Spodoptera frugiperda*, com e sem presença de competidoras ($27\pm 2^{\circ}\text{C}$, $60\pm 20\%$, observações realizadas entre a segunda e nona hora da fotofase). Letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (Exame externo: ANOVA, $p=0,55$; Exame interno + oviposição: Kruskal-Wallis, $p=0,0008$; Marcação: ANOVA, $p=0,57$). Ta=*T. atopovirilia*, Tr=*Telenomus remus*, Tp=*T. pretiosum*

Assim como ocorreu com *T. remus*, a competição não teve influência sobre a frequência de abandono da postura (ANOVA, $p=0,54$). Apesar disso, com relação ao tempo de abandono, fêmeas que competiram com co-genéricas passaram mais tempo fora da postura (Kruskal-Wallis, $p=0,003$) (Figura 4.9).

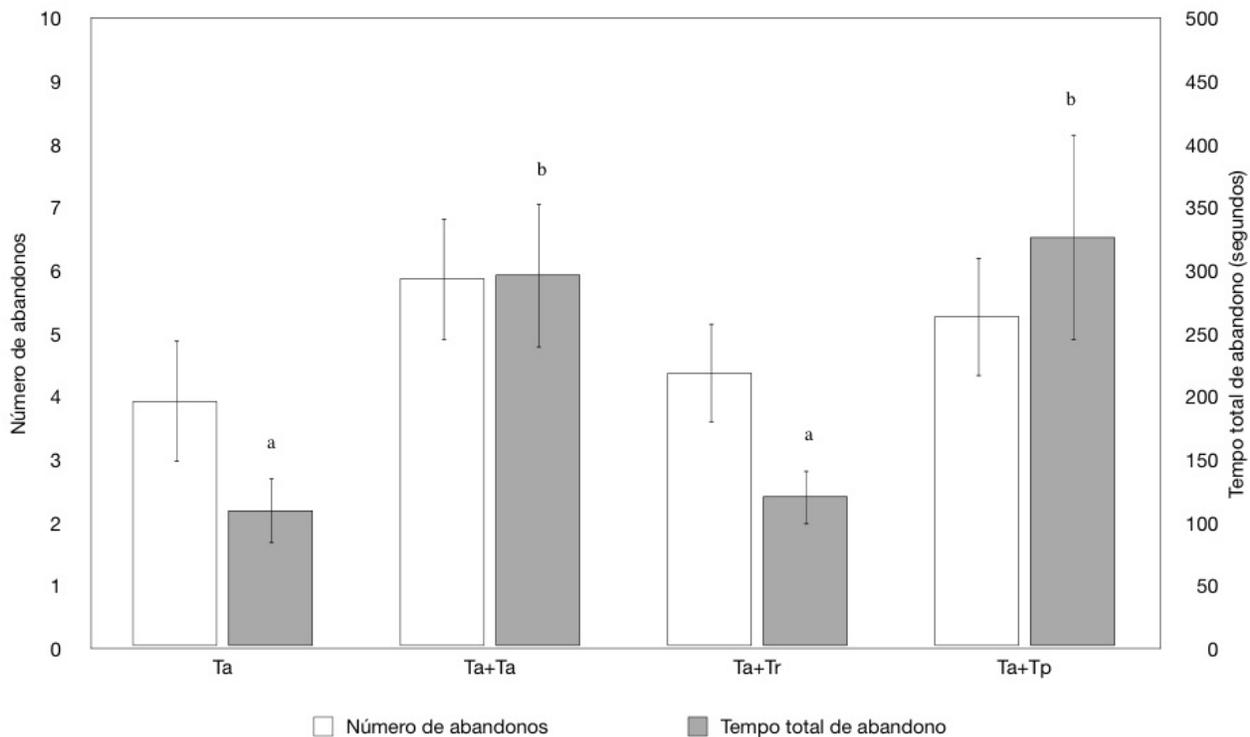


Figura 4.9 - “Número de abandonos” e “tempo total de abandono (segundos)” de hospedeiros por fêmeas de *Trichogramma atopovirilia*, em ambientes com e sem presença de competidoras. Foi considerado abandono a saída da fêmea da superfície da massa de ovos (*Spodoptera frugiperda*) por mais de cinco segundos ($27\pm 2^{\circ}\text{C}$, $60\pm 20\%$, observações realizadas entre a segunda e nona hora da fotofase). Comparações apenas entre colunas de mesma cor. Letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (Número de abandonos: ANOVA, $p=0,54$; Tempo total de abandono: Kruskal-Wallis, $p=0,003$). Ta=*T. atopovirilia*, Tr=*Telenomus remus*, Tp=*T. pretiosum*

Para as fêmeas de *T. atopovirilia* individualizadas, o número mínimo de inserções do ovipositor necessário para a completa exploração dos oito ovos disponibilizados foi $12,31\pm 0,86$, valor semelhante ao de fêmeas que competiram intra (*T. atopovirilia* x *T. atopovirilia*) ou interespecificamente (*T. atopovirilia* x *T. remus* ou *T. atopovirilia* x *T. pretiosum*) (ANOVA, $p=0,08$). Já o número total de inserções em 30 minutos para fêmeas não competidoras foi $18,24\pm 1,25$, valor que também não diferiu significativamente dos demais tratamentos. Apesar disso, constatou-se que fêmeas em competição intra-específica (*T. atopovirilia* x *T. atopovirilia*) realizaram maior número de inserções do que fêmeas em competição interespecífica com *T. pretiosum* (ANOVA, $p=0,02$) (Figura 4.10).

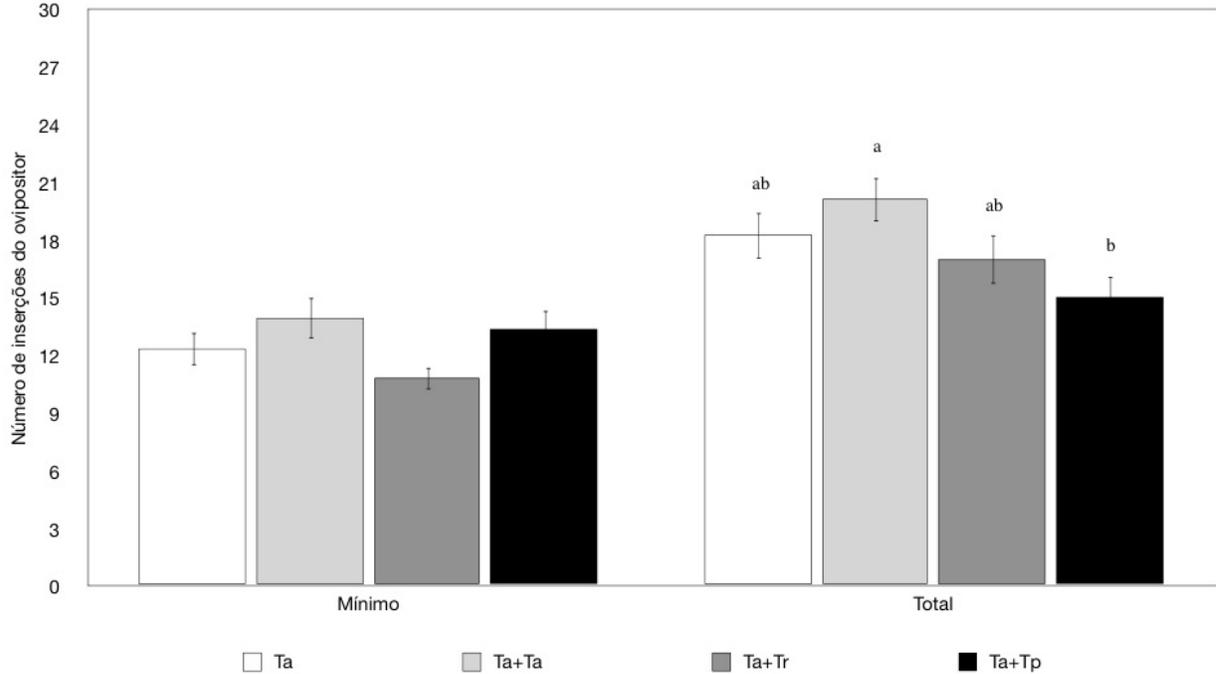


Figura 4.10 - “Número mínimo de inserções do ovipositor” realizado por fêmeas de *Trichogramma atopovirilia* até que todos os hospedeiros disponíveis (oito ovos de *Spodoptera frugiperda*) fossem explorados; e “total de inserções” realizadas em todo o período de observação (30 min.); em ambientes com e sem presença de competidoras ($27\pm 2^{\circ}\text{C}$, $60\pm 20\%$, observações realizadas entre a segunda e nona hora da fotofase). Letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (Mínimo: Kruskal-Wallis, $p=0,08$; Total: ANOVA, $p=0,02$). Ta=*T. atopovirilia*, Tr=*Telenomus remus* Nixon, Tp=*T. pretiosum*

Para *T. atopovirilia*, a presença de uma competidora co-específica afetou significativamente o número de ovos depositados por fêmea em cada ovo hospedeiro (ANOVA, $p=0,0005$), causando uma diminuição de 38% na oviposição com relação às fêmeas controle (individualizadas). Já a competição com *T. remus* não afetou este parâmetro (Figura 4.11).

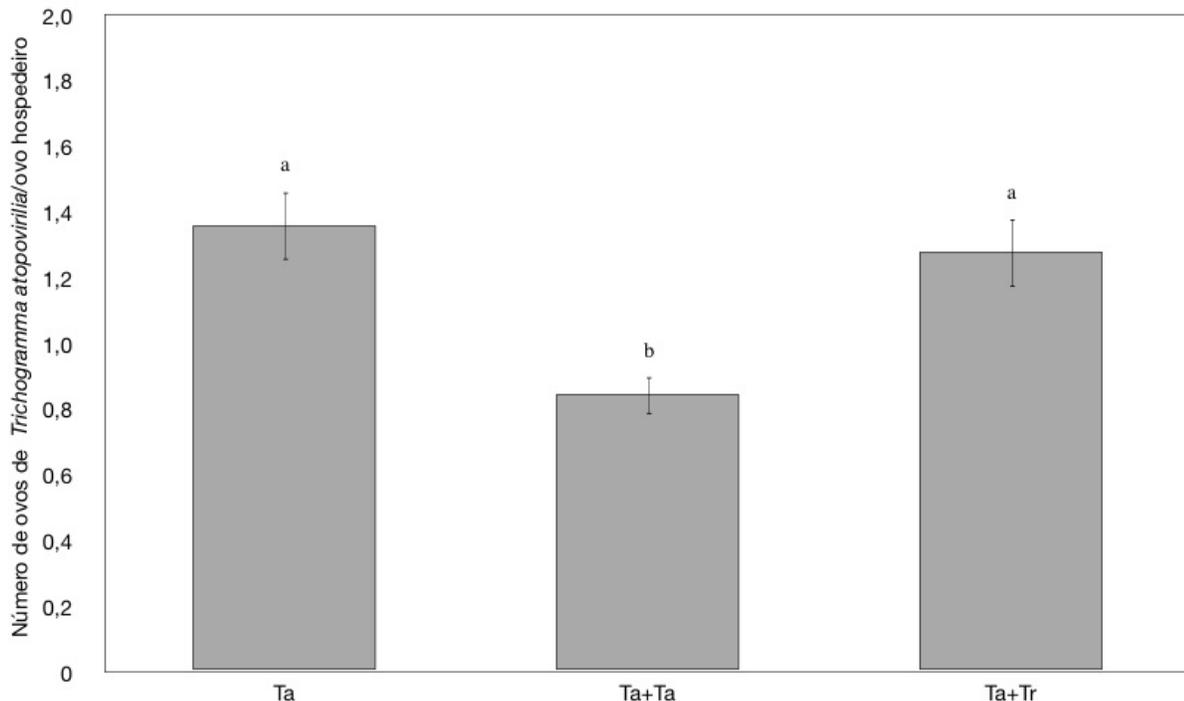


Figura 4.11 - Número de ovos colocados por uma fêmea de *Trichogramma atopovirilia* em cada ovo hospedeiro (*Spodoptera frugiperda*), em ambientes com e sem presença de competidoras. Parasitismo permitido por 30 minutos ($27\pm 2^{\circ}\text{C}$, $60\pm 20\%$, observações realizadas entre a segunda e nona hora da fotofase). Em “Ta+Ta” (competição intra-específica), a coluna representa o número de ovos encontrados por hospedeiro dividido por dois (número de fêmeas liberadas). Letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (ANOVA, $p=0,0005$). Ta=*T. atopovirilia*, Tr=*Telenomus remus*

Ao final dos 30 minutos de teste, fêmeas de *T. atopovirilia* individualizadas e em competição com co-específicas, com *T. remus* e com *T. pretiosum*, deixaram, respectivamente, $0,38\pm 0,18$, $0,75\pm 0,23$, $0,55\pm 0,23$ e $0,55\pm 0,17$ hospedeiros inexplorados, valores que não diferiram significativamente entre si (ANOVA, $p=0,66$) (Figura 4.12).

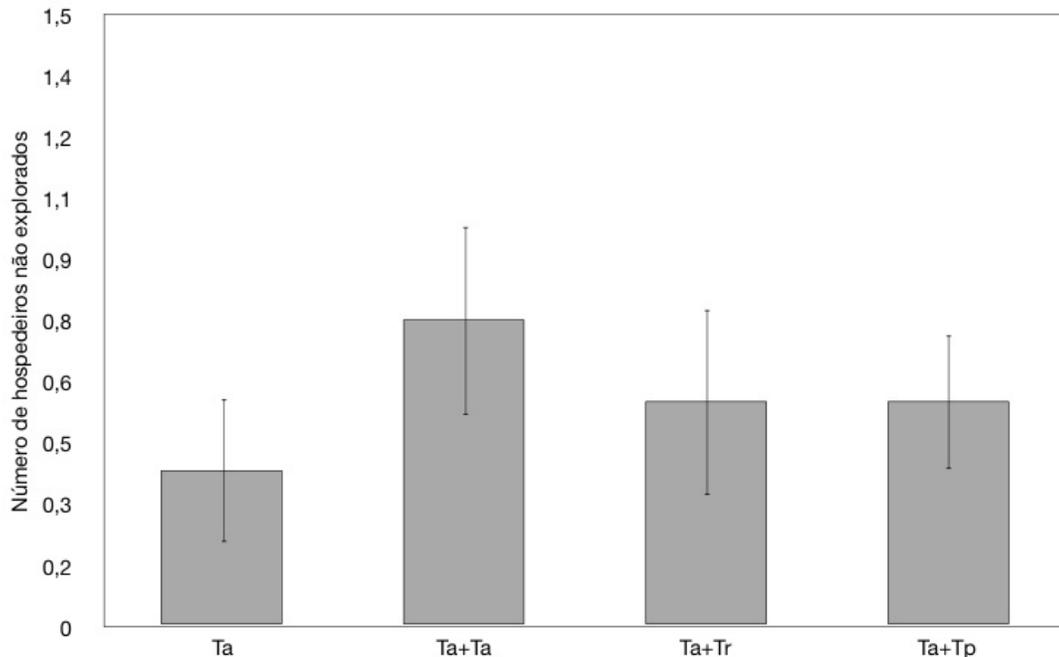


Figura 4.12 - Número de hospedeiros (ovos de *Spodoptera frugiperda*) inexplorados (não examinados internamente e/ou tampouco ovipositados) por fêmea de *Trichogramma atopovirilia* em 30 minutos; em ambientes com e sem presença de competidoras ($27\pm 2^{\circ}\text{C}$, $60\pm 20\%$, observações realizadas entre a segunda e nona hora da fotofase). Não foram constatadas diferenças significativas entre os tratamentos (ANOVA, $p=0,66$). Ta=*T. atopovirilia*, Tr=*Telenomus remus*, Tp=*T. pretiosum*

Ao contrário do observado na espécie *T. remus*, fêmeas solitárias de *T. atopovirilia* preferiram inserir o ovipositor em hospedeiros localizados na região periférica da massa de ovos (Kruskal-Wallis, $p=0,008$). O mesmo não ocorreu para as fêmeas envolvidas em competição intra e interespecíficas (Kruskal-Wallis, $p=0,062$), que não demonstraram preferência.

Também não foram observadas diferenças significativas entre o número de ovos colocados por hospedeiro nas duas regiões, inclusive para fêmeas solitárias de *T. atopovirilia* (Figura 4.13).

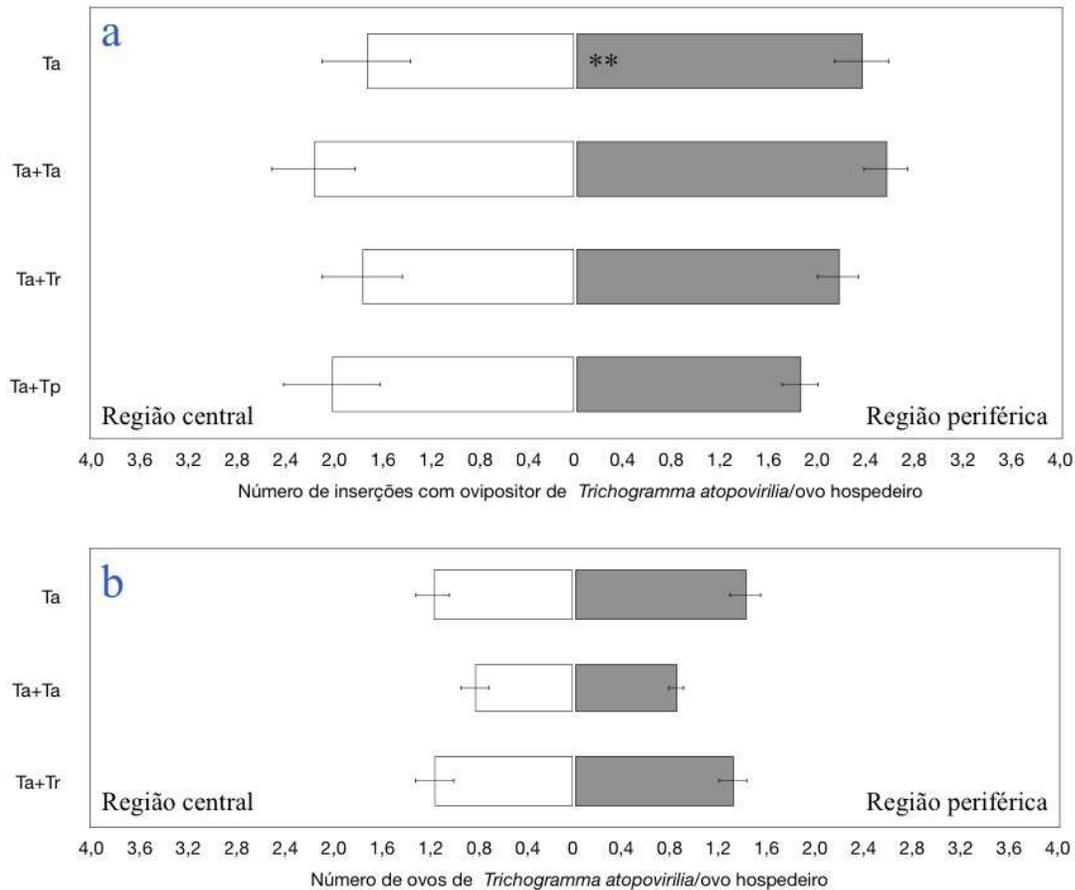


Figura 4.13 - Número de inserções do ovipositor (a) e ovos colocados (b) por fêmeas de *Trichogramma atopovirilia* em hospedeiros *Spodoptera frugiperda* localizados na região central e periférica da massa de ovos; em ambientes com e sem presença de competidoras. Parasitismo permitido por 30 minutos ($27 \pm 2^\circ\text{C}$, $60 \pm 20\%$, observações realizadas entre a segunda e nona hora da fotofase). Asteriscos indicam diferença significativa entre as regiões dentro de cada combinação de parasitoides (Kruskal-Wallis, $**p < 0,01$). Ta=*T. atopovirilia*, Tr=*Telenomus remus*, Tp=*T. pretiosum*

4.3.1.2 *Trichogramma pretiosum*

Fêmeas solitárias ou em competição intra-específica desta espécie apresentaram forte preferência por hospedeiros da região periférica, tanto para inserção do ovipositor (Kruskal-Wallis, $p < 0,001$), quanto para a oviposição (ANOVA, $p = 0,047$). No entanto, para *T. pretiosum*, competir interespecificamente implicou num aproveitamento mais equilibrado da massa de ovos, tanto para inserção como para oviposição, já que diferenças significativas não foram detectadas para estes parâmetros entre as regiões central e periférica do grupo de ovos (Figura 4.14).

Para todos os demais parâmetros estudados, ao contrário do observado nas outras espécies, a presença de competidoras pareceu não afetar o forrageamento de *T. pretiosum*, uma vez que, em comparação com fêmeas individualizadas, não observaram-se diferenças significativas em nenhuma das demais variáveis avaliadas (Figuras 4.15, 4.16, 4.17, 4.18 e 4.19).

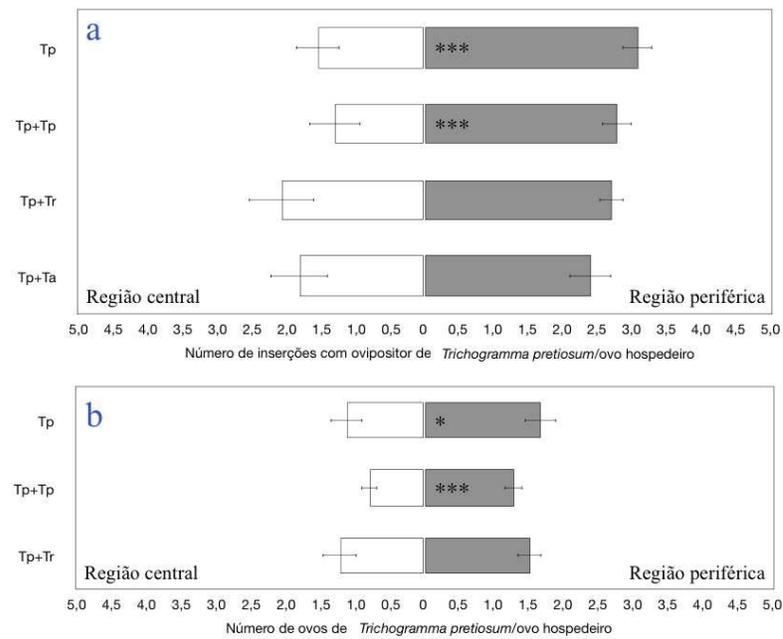


Figura 4.14 - Número de inserções do ovipositor (a) e ovos colocados (b) por fêmeas de *Trichogramma pretiosum* em hospedeiros (*Spodoptera frugiperda*) localizados na região central e periférica da massa de ovos; em ambientes com e sem presença de competidoras. Parasitismo permitido por 30 minutos ($27\pm 2^{\circ}\text{C}$, $60\pm 20\%$, observações realizadas entre a segunda e nona hora da fotofase). Asteriscos indicam diferença significativa entre as regiões dentro de cada combinação de parasitoides (a: Kruskal-Wallis; b: ANOVA; * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$). Tp=*T. pretiosum*; Ta=*T. atopovirilia*, Tr=*Telenomus remus*

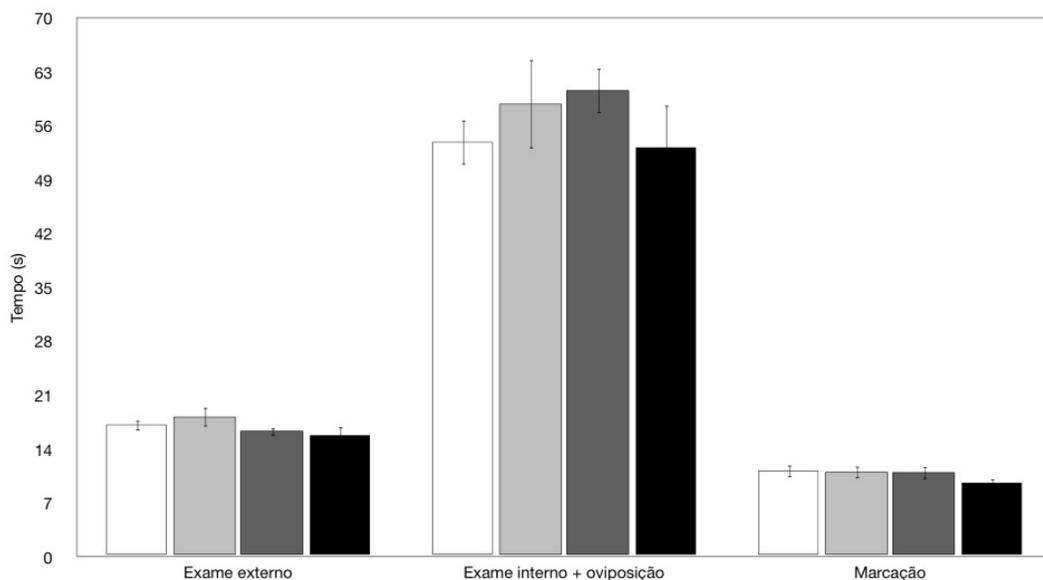


Figura 4.15 - Tempo (segundos) investido por fêmeas de *Trichogramma pretiosum* nas etapas de “exame externo”, “exame interno + oviposição” e “marcação”, durante o processo de forrageamento de ovos de *Spodoptera frugiperda* com e sem presença de competidoras ($27\pm 2^{\circ}\text{C}$, $60\pm 20\%$, observações realizadas entre a segunda e nona hora da fotofase). Não foram constatadas diferenças significativas entre os tratamentos (Exame externo: Kruskal-Wallis, $p=0,8$; Exame interno + oviposição: Kruskal-Wallis, $p=0,31$; Marcação: ANOVA, $p=0,55$). Tp= *T. pretiosum*, Tr=*Telenomus remus*, Ta=*T. atopovirilia*

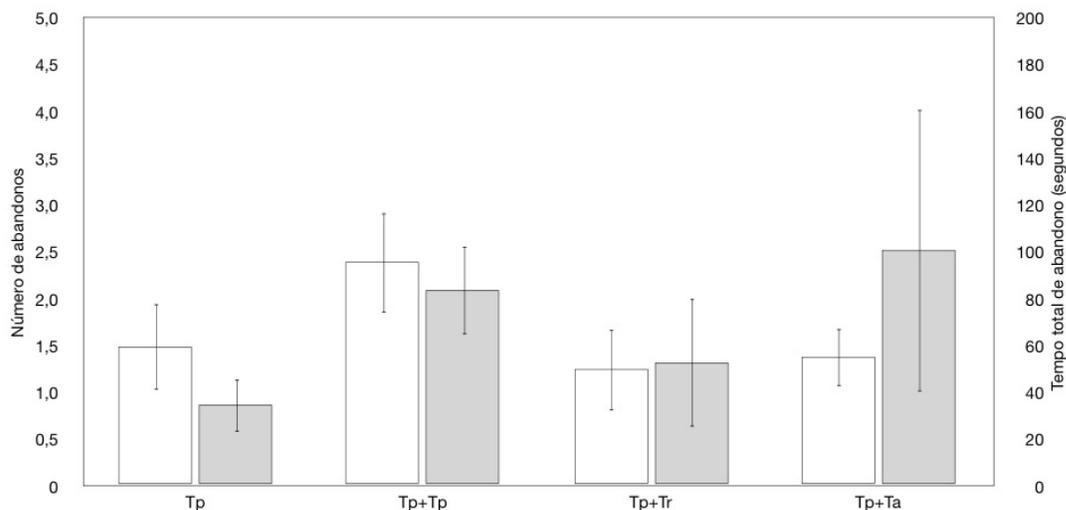


Figura 4.16 - Número de abandonos e tempo total de abandono (segundos) de hospedeiros por fêmeas de *Trichogramma pretiosum*, em ambientes com e sem presença de competidoras. Foi considerado abandono a saída da fêmea da superfície da massa de ovos (*Spodoptera frugiperda*) por mais de cinco segundos ($27\pm 2^{\circ}\text{C}$, $60\pm 20\%$, observações realizadas entre a segunda e nona hora da fotofase). Não foram constatadas diferenças significativas entre os tratamentos (ANOVA, Número de abandonos: $p=0,2$; Tempo total de abandono: $p=0,2$). Tp= *T. pretiosum*, Tr=*Telenomus remus*, Ta=*T. atopovirilia*

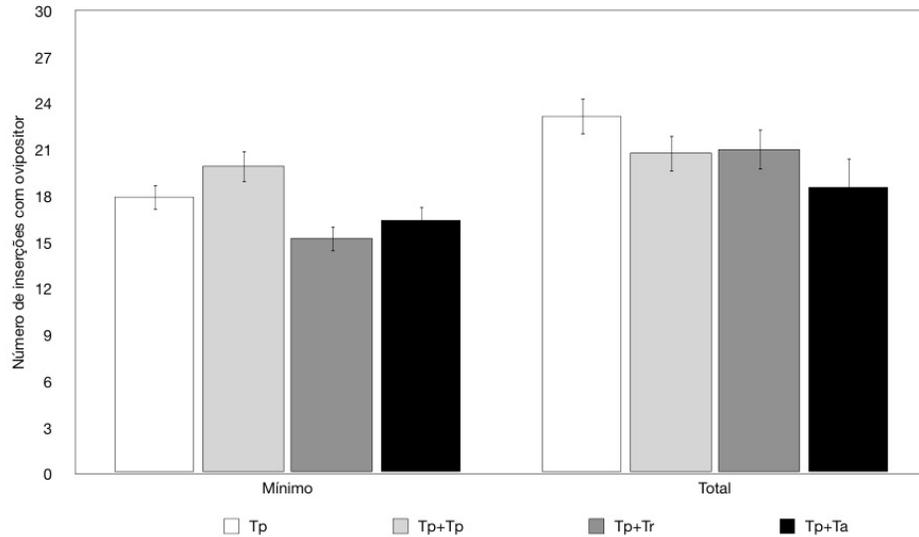


Figura 4.17 - “Número mínimo de inserções” com ovipositor realizado por fêmeas de *Trichogramma pretiosum* até que todos os hospedeiros disponíveis (oito ovos de *Spodoptera frugiperda*) fossem explorados; e “Total de inserções” realizadas em todo o período de observação (30 min.); em ambientes com e sem presença de competidoras ($27\pm 2^{\circ}\text{C}$, $60\pm 20\%$, observações realizadas entre a segunda e nona hora da fotofase). Não foram constatadas diferenças significativas entre os tratamentos (ANOVA, Mínimo: $p=0,11$); Total: $p=0,16$). Tp= *T. pretiosum*, Tr=*Telenomus remus*, Ta=*T. atopovirilia*

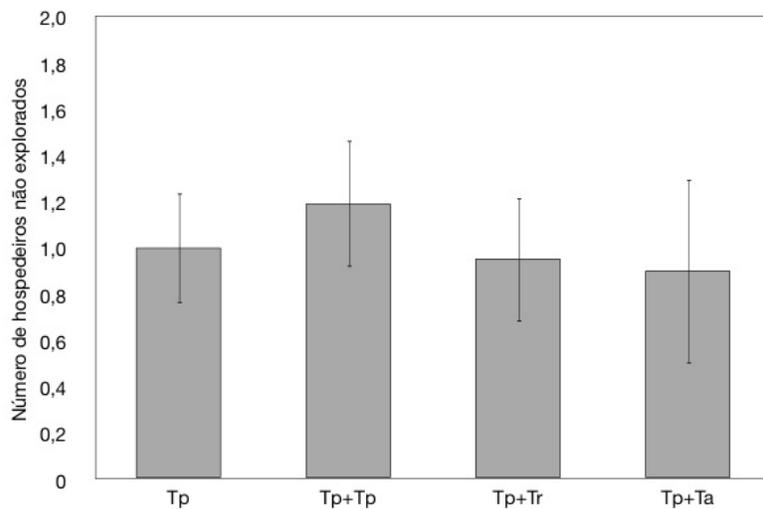


Figura 4.18 - Número de hospedeiros (ovos de *Spodoptera frugiperda*) inexplorados (não examinados internamente e/ou tampouco ovipositados) por fêmea de *Trichogramma pretiosum* em 30 minutos; em ambientes com e sem presença de competidoras ($27\pm 2^{\circ}\text{C}$, $60\pm 20\%$, observações realizadas entre a segunda e nona hora da fotofase). Não foram constatadas diferenças significativas entre os tratamentos (Kruskal-Wallis, $p=0,91$). Tp= *T. pretiosum*, Tr=*Telenomus remus*, Ta=*T. atopovirilia*

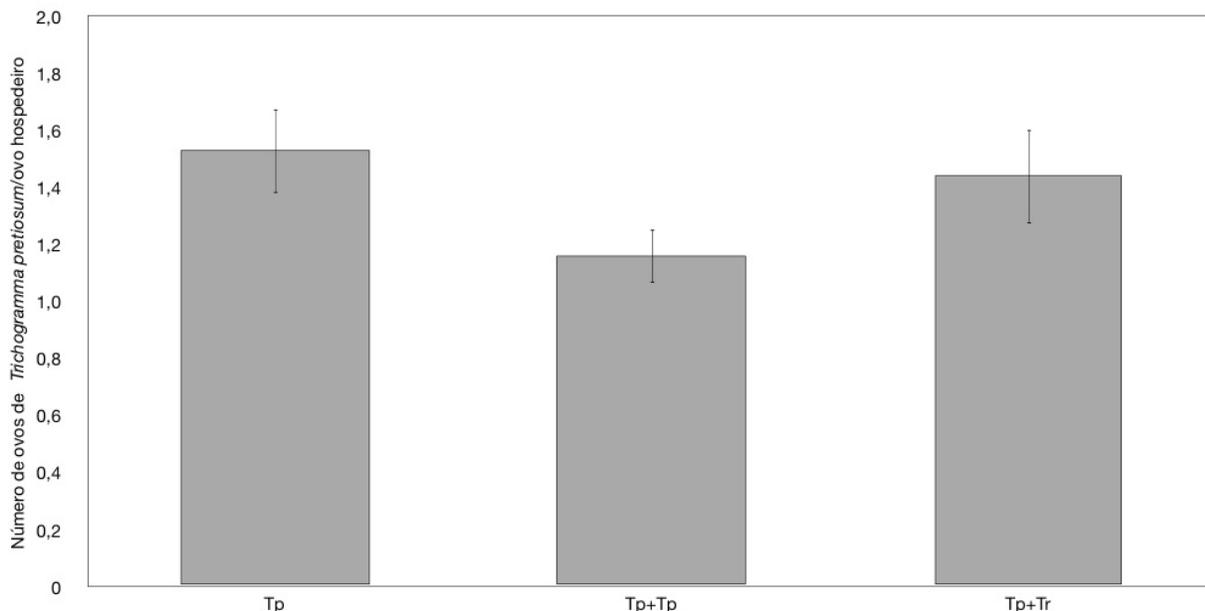


Figura 4.19 - Número de ovos colocados por uma fêmea de *Trichogramma pretiosum* em cada ovo hospedeiro (*Spodoptera frugiperda*), em ambientes com e sem presença de competidoras. Parasitismo permitido por 30 minutos ($27\pm 2^{\circ}\text{C}$, $60\pm 20\%$, observações realizadas entre a segunda e nona hora da fotofase). Em “Tp+Tp” (competição intra-específica), a coluna representa o número de ovos encontrados por hospedeiro dividido por dois (número de fêmeas liberadas). Não foram constatadas diferenças significativas entre os tratamentos (ANOVA, $p=0,15$). Tp=*T. pretiosum*, Tr=*Telenomus remus*

4.3.2 Competição interna

4.3.2.1 Adultos emergidos

Cada hospedeiro parasitado por fêmeas de *T. remus*, individualizadas ou em competição, deu origem, invariavelmente, ou a um ou a nenhum adulto da espécie. Respostas distintas foram encontradas para as duas espécies de tricogramatídeos.

Para *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*, cada um dos hospedeiros submetidos às fêmeas solitárias deu origem a, respectivamente, $1,39\pm 0,13$ e $1,43\pm 0,16$ adulto por ovo, valores que não diferenciaram significativamente do apresentado por fêmeas em competição interespecífica. Em contrapartida, quando ambas as espécies competiram intra-especificamente, *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* originaram quantidades de adultos significativamente superiores àquela apresentada por fêmeas solitárias (ANOVA - *T. atopovirilia*, $F=3,82$, $p=0,01$; *T. pretiosum*: $F=11,89$, $p<0,0001$) (Figura 4.20).

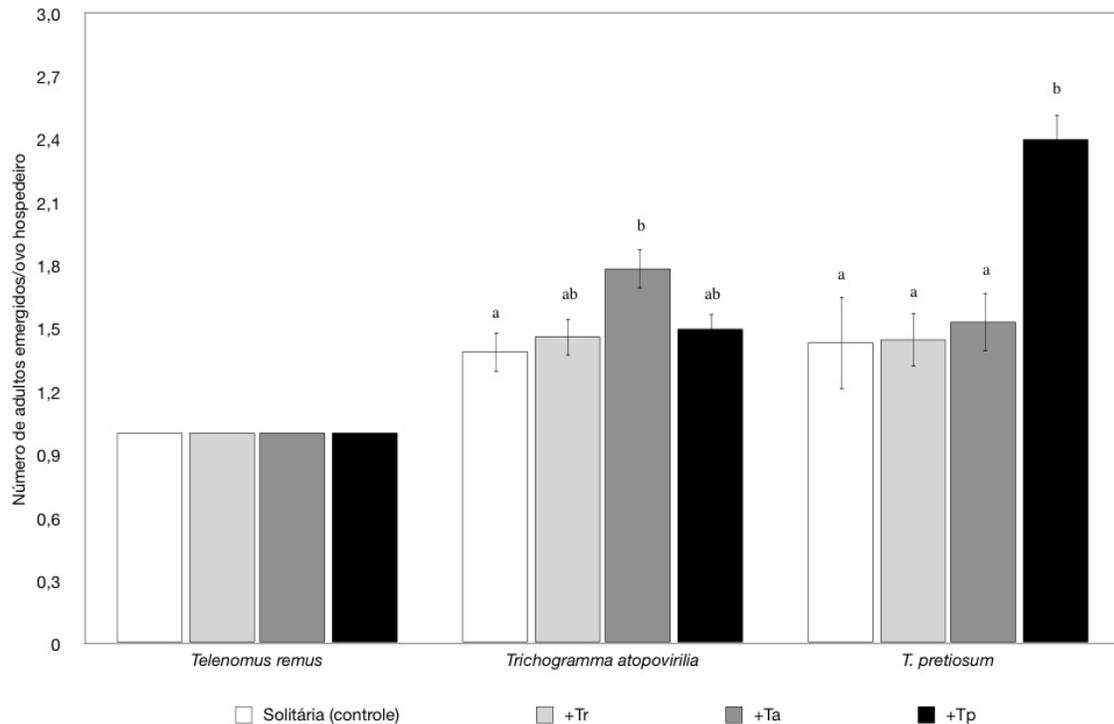


Figura 4.20 - Número de adultos de *Telenomus remus*, *Trichogramma atopovirilia* e *T. pretiosum* emergidos por ovo (*Spodoptera frugiperda*), a partir de hospedeiros parasitados por uma fêmea individualizada (controle) ou por fêmeas das três espécies duplamente combinadas ($27\pm 2^{\circ}\text{C}$, $60\pm 20\%$, fotofase de 14h). Letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (*T. remus*: Kruskal-Wallis, $H=54.37$, $p=0,0001$; *T. atopovirilia*: ANOVA, $F=11,07$, $p=0,0001$; *T. pretiosum*: ANOVA, $F=29,28$, $p=0,0001$). Tr=*T. remus*, Ta=*T. atopovirilia*, Tp=*T. pretiosum*

4.3.2.2 Razão sexual e morte de imaturos

Para ambas as espécies de *Trichogramma*, a razão sexual da prole de fêmeas em competição não diferiu significativamente daquelas apresentadas por fêmeas solitárias (ANOVA - *T. atopovirilia*: $F=2,58$; $p=0,058$; *T. pretiosum*, $F=1,27$; $p=0,29$). Assim, as competições intra e interespecíficas não afetaram a razão sexual de nenhuma das espécies de tricogramatídeos estudadas. Um quadro bem distinto foi observado para *T. remus*, já que todos os tipos de competição levaram a uma razão sexual significativamente inferior à apresentada pela prole de fêmeas não competidoras (Figura 4.21), deixando claro o impacto do fator competição neste parâmetro, para esta espécie.

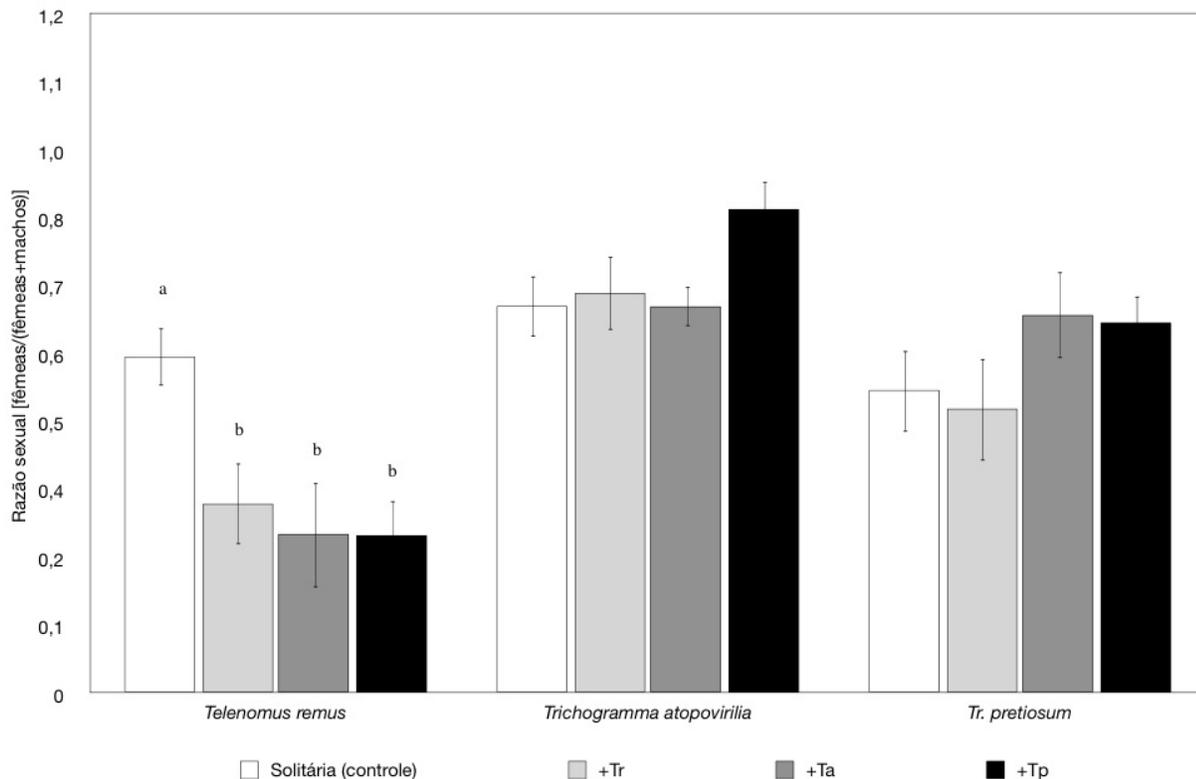


Figura 4.21 - Razão sexual da prole de *Telenomus remus*, *Trichogramma pretiosum* e *Trichogramma atopovirilia*, emergida a partir de hospedeiros (ovos de *Spodoptera frugiperda*) parasitados por uma fêmea individualizada (controle) ou por fêmeas das três espécies duplamente combinadas ($27\pm 2^{\circ}\text{C}$, $60\pm 20\%$, fotofase de 14h). Letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (ANOVA, $F=4,78$, $p<0,01$). Tr=*T. remus*, Ta=*T. atopovirilia*, Tp=*T. pretiosum*

Com relação à morte das fases imaturas, calculada pela soma dos hospedeiros inviáveis com os adultos não emergidos, os valores apresentados por fêmeas solitárias de *T. remus*, *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* foram, respectivamente, $0,21\pm 0,11$; $0,15\pm 0,08$ e $0,17\pm 0,08$; os quais não diferenciaram significativamente entre si e nem das várias combinações duplas (Kruskal-Wallis, $H=1,96$; $p=0,98$). Assim, as competições intra e interespecífica entre estas três espécies de parasitoides de ovos não afetou as mortalidades de suas fases imaturas (Figura 4.22).

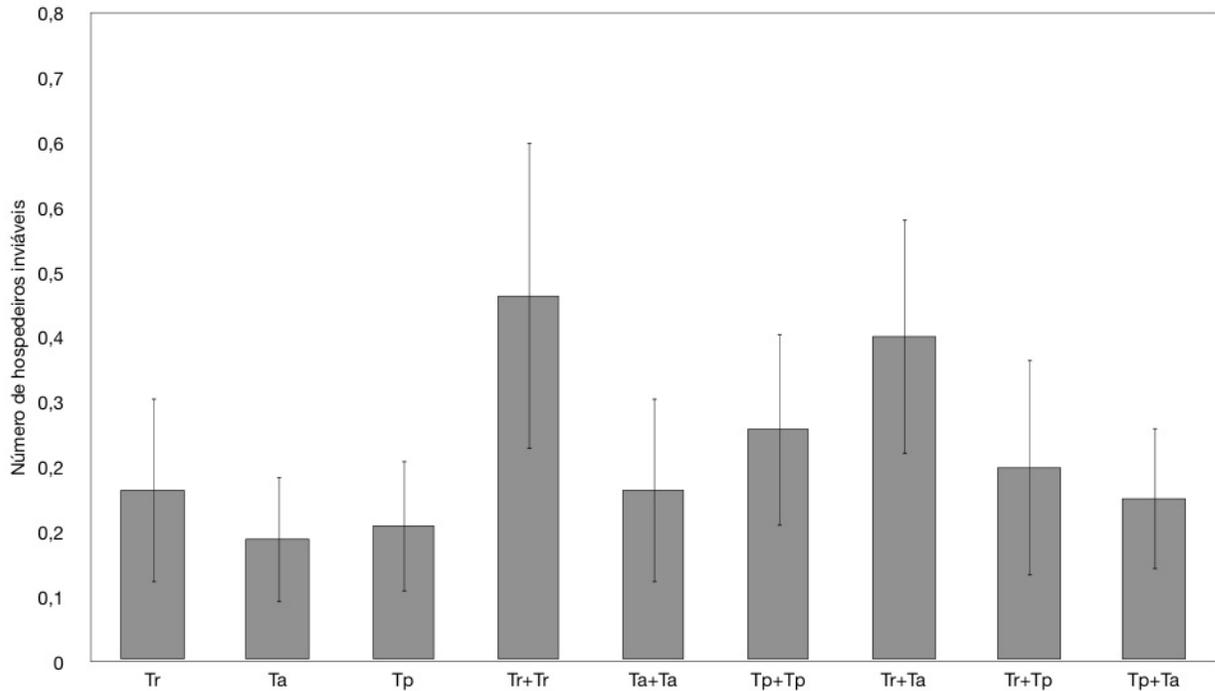


Figura 4.22 - Número de hospedeiros (ovos de *Spodoptera frugiperda*) inviáveis provenientes de hospedeiros submetidos ao parasitismo de uma fêmea individualizada (controle) de *Telenomus remus*, *Trichogramma atopovirilia* ou *T. pretiosum* ou por fêmeas das três espécies duplamente combinadas ($27\pm 2^{\circ}\text{C}$, $60\pm 20\%$, fotofase de 14h). Não se observaram diferenças significativas entre os tratamentos (Kruskal-Wallis, $H=1,96$; $p=0,982$). Tr=*T. remus*, Ta=*T. atopovirilia*, Tp=*T. pretiosum*

4.3.2.3 Dominância da competição interespecífica

Apesar de não haver diferenças significativas entre os números de ovos por hospedeiro, colocados por *T. remus* e por *T. atopovirilia* quando em competição recíproca (ANOVA, $F=3,72$, $p=0,057$) (Figura 4.23), em $72,64\pm 8,56\%$ dos casos, *T. atopovirilia* é a única espécie a emergir a partir de hospedeiros multiparasitados, valor significativamente superior ao apresentado por *T. remus* (ANOVA, $F=12,99$, $p=0,001$) (Figura 4.24). Estes dados revelam que, apesar do multiparasitismo ocorrer de forma similar, com diferenças não significativas entre os números de oviposições de cada espécie em cada ovo hospedeiro, a taxa de emergência ou de sobrevivência das espécies é diferente, com o tricogramatídeo exercendo dominância em aproximadamente 2/3 dos casos de multiparasitismo.

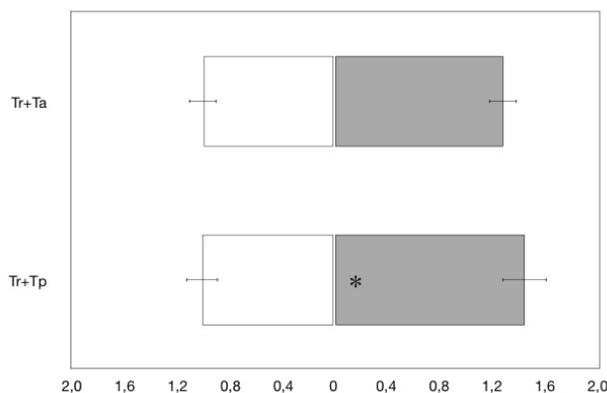


Figura 4.23 - Número ovos colocados por fêmea de *Telenomus remus*, *Trichogramma atopovirilia* e *T. pretiosum* em cada ovo hospedeiro (*Spodoptera frugiperda*), em ambientes com competidoras hétero-específicas. Parasitismo permitido por 30 minutos ($27\pm 2^{\circ}\text{C}$, $60\pm 20\%$, observações realizadas entre a segunda e nona hora da fotofase). Asterisco indica diferenças significativas entre os tratamentos (ANOVA, $p=0,03$). Tr=*T. remus*, Ta=*T. atopovirilia*, Tp=*T. pretiosum*

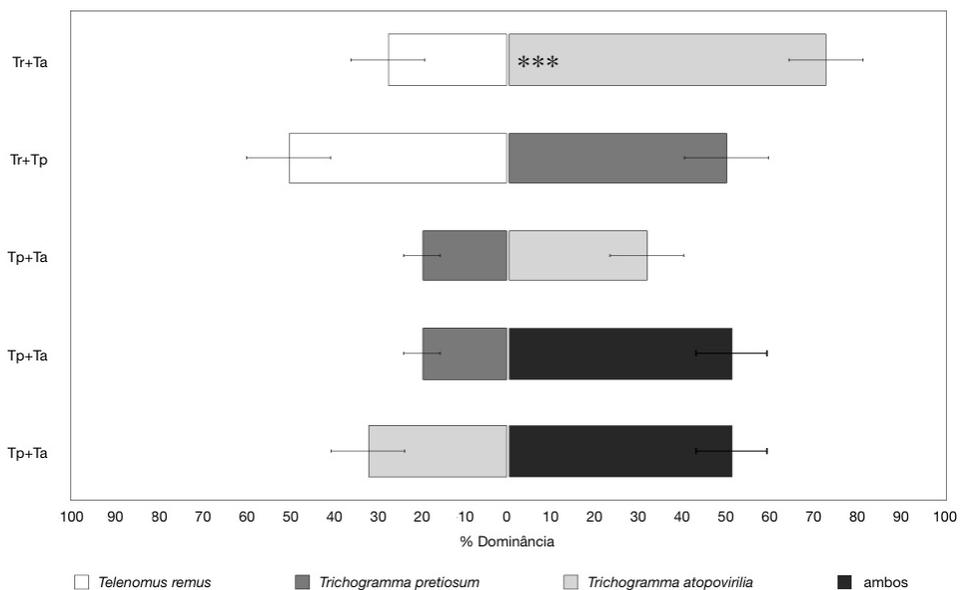


Figura 4.24 - Percentagem de dominância de *Telenomus remus*, *Trichogramma atopovirilia* e *T. pretiosum* na competição interna interespecífica. Asteriscos indicam diferenças significativas entre os tratamentos (ANOVA, * $p<0,05$; *** $p<0,001$). Tr=*T. remus*, Ta=*T. atopovirilia*, Tp=*T. pretiosum*

O inverso foi observado na competição entre *T. remus* e *T. pretiosum*. Neste caso, as fêmeas desta espécie de tricogramatídeo colocaram um número de ovos em cada hospedeiro significativamente superior ao colocado pelas fêmeas do

escelionídeo (ANOVA, $F=4,73$, $p=0,03$) (Figura 4.23). Em contrapartida, as percentagens de emergência de ambas as espécies não diferenciaram-se reciprocamente (ANOVA, $F<0,0001$; $p=0,99$) (Figura 4.24), o que torna equilibrada a competição interna entre *T. remus* e *T. pretiosum*.

Com relação à dominância na competição interna, *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* emergiram isoladamente, respectivamente, em $31,8\pm 8,64\%$ e $19,4\pm 4,46\%$ dos hospedeiros; diferenças consideradas não significativas entre si. Todavia, ao contrário da competição com *T. remus*, onde invariavelmente observou-se a emergência de uma única espécie a partir de ovos multiparasitados; em $51,23\pm 8,47\%$ dos hospedeiros submetidos ao parasitismo simultâneo por *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*, ambas as espécies emergiram de cada hospedeiro. Este valor é significativamente superior à dominância de *T. pretiosum* (ANOVA, $F=3,96$, $p=0,02$) (Figura 4.24). Assim, apesar de não ter sido possível estimar a taxa de multiparasitismo por *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* (vide item 4.2), a emergência das duas espécies a partir de um único hospedeiro é uma prova de que ovos multiparasitados por estas espécies ocorrem em pelo menos $51,23\pm 8,47\%$ dos hospedeiros submetidos ao parasitismo simultâneo das duas espécies de tricogramatídeos.

As percentagens de emergência de *T. remus* sobre *T. atopovirilia* e sobre *T. pretiosum* revelaram diferenças não significativas entre as mesmas (ANOVA, $F=2,81$, $p=0,10$). Assim, apesar de *T. remus* apresentar emergência inferior a *T. atopovirilia* e semelhante a *T. pretiosum* na competição interna, as respostas do escelionídeo aos dois tricogramatídeos não são significativamente distintas.

4.4 Discussão

A competição externa entre parasitoides de ovos ainda é pouco estudada. Embora comportamentos agressivos/defensivos sejam referidos para fêmeas de parasitoides de ovos em competição (MAHMOUD; LIM, 2008; SUJII et al., 2002), abordagens quantitativas dos efeitos desta interação sobre o forrageamento e abandono do grupo de hospedeiros (“patch”) até há pouco mais de uma década eram inexistentes (FIELD, 1998), sendo ainda escassos.

Neste trabalho, foram trazidas evidências de como e quanto as competições externas intra e interespecíficas podem afetar o forrageamento de parasitoides de ovos, mesmo quando a presença de competidoras não provoca comportamentos agressivos/defensivos. Até onde se sabe, esta é a primeira vez que estes aspectos são abordados com bases científicas.

Dos onze parâmetros avaliados no estudo de competição externa, três - “exame externo”, “marcação” e “número de abandonos da postura (“patch”) - não sofreram influência do fator competição, para nenhuma das três espécies de parasitoides estudadas. Cada um dos oito parâmetros restantes foi influenciado em pelo menos uma destas espécies.

A forma como as fêmeas dos parasitoides respondem à competição variou consideravelmente entre as espécies estudadas. Até mesmo entre *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*, que pertencem ao mesmo gênero, e, portanto, filogeneticamente mais próximas uma da outra, do que *T. remus*.

Fêmeas de *T. pretiosum* competindo interespecificamente apresentaram a mesma performance que co-específicas solitárias, para todos os onze parâmetros avaliados na competição externa. Contrastando com este resultado estão *T. atopovirilia* e *T. remus*, que tiveram a suas performances afetadas respectivamente em cinco e seis parâmetros. Estes resultados colocam *T. pretiosum* como a espécie mais tolerante à ação de competidoras co e hétero-específicas dentre as três estudadas.

Adultas de *Trissolcus nigripedius* Nakagawa (Scelionidae) defendem o grupo de ovos (“patch”) contra invasoras e sempre vencem a competição com *Telenomus gifuensis* Ashmead; por outro lado, *T. gifuensis*, apesar de levar desvantagem na competição externa, sempre suplanta *T. nigripedius* na competição de imaturos em hospedeiros multiparasitados (MAHMOUD; LIM, 2008). Assim, ser superior na competição interna pode compensar a inabilidade na competição externa, e vice-versa.

Seguindo este raciocínio, ser uma adulta tolerante ou indiferente à ação de hétero-competidoras, parece ser uma estratégia eficiente quando se é capaz de produzir uma prole competitivamente vantajosa e dominante, ou seja, quando a sobrevivência da descendência estará garantida apesar da interação competitiva.

Todavia, curiosamente, esta lógica não se aplica a *T. pretiosum*, já que na competição interespecífica sua prole compete em nível de igualdade tanto com *T. atopovirilia* como com *T. remus*, não apresentando dominância sobre nenhuma. Competir intrinsecamente com *T. atopovirilia*, inclusive, faz com que 2/3 dos adultos emergidos apresentem tamanho reduzido pelo compartilhamento dos recursos nutricionais do hospedeiro, diminuindo a sua aptidão (“fitness”) (ex.: OLSON; ANDOW, 1998; BAI et al., 1992). Desta forma, para *T. pretiosum*, permanecer em um grupo de ovos com *T. atopovirilia* ou *T. remus* só terá alguma vantagem caso a sua habilidade de encontrar novos hospedeiros seja reduzida, o que exige que novas investigações sejam realizadas.

Ao contrário de *T. pretiosum*, fêmeas competidoras co ou hétero-específicas fizeram com que fêmeas de *T. remus* passassem muito mais tempo fora do grupo de ovos. Para *T. atopovirilia*, isto só aconteceu na presença de co-genéricas. Para ambas as espécies, todo este tempo fora da postura não teve efeito sobre a taxa de oviposição.

Fêmeas de *T. remus* usualmente marcam externamente os hospedeiros já parasitados raspando o ovipositor sobre seu córion (SCHWARTZ; GERLING, 1974). Além disso, Cave (2000) sugere que fêmeas de *T. remus* têm uma forte tendência a evitar superparasitismo. No presente estudo, durante os 30 minutos de observação, a marcação externa teve uma eficiência de aproximadamente 50% para fêmeas solitárias ou em competição interespecífica, ou seja, dos oito ovos disponibilizados, quatro deles foram re-examinados internamente mesmo havendo hospedeiros ainda não explorados (e nem marcados) disponíveis. Seja pela marcação externa ou interna, ou por uma combinação destas, o “auto-superparasitismo” (superparasitismo promovido pela mesma fêmea) foi evitado, dado o número de ovos encontrados por hospedeiro. Entretanto, na presença de uma competidora co-específica, a marcação foi ineficiente pois, neste caso, cada hospedeiro foi examinado internamente aproximadamente 2,5 vezes até que todos os oito ovos disponíveis fossem explorados. Estes dados sugerem que na competição intra-específica a marcação externa de ambas as fêmeas gera confusão no reconhecimento externo de hospedeiros já explorados, diminuindo a eficiência no forrageamento.

Fêmeas de *T. atopovirilia* reconheceram ovos já parasitados por co-específicas, ovipositando menos neste tipo de hospedeiro. Esta, aliás, foi a única evidência de reconhecimento interno de hospedeiros parasitados por uma segunda fêmea, entre as espécies estudadas. *T. remus* evitou “auto-superparasitismo”, já que em posturas com fêmeas solitárias foi detectado apenas um ovo/hospedeiro. Entretanto, a marcação interna não foi eficiente em evitar o superparasitismo por co-específicas.

Embora fêmeas de *T. remus* realizem superparasitismo, de acordo com Gerling (1972), é comum a emergência de apenas um adulto a partir de hospedeiros superparasitados. A novidade com relação a este aspecto, é que a taxa de mortalidade pré-imaginal em hospedeiros super e multiparasitados é semelhante à constatada em hospedeiros cujos imaturos não sofreram competição. Este fato, aliás, foi verdadeiro também para os tricogramatídeos estudados.

Para *T. atopovirilia*, hospedeiros multiparasitados deram origem à mesma quantidade de adultos advindos de hospedeiros parasitados por fêmeas solitárias ou por fêmeas em competição intraespecífica, evidenciando que o multiparasitismo não afeta o número de adultos produzidos por ovo hospedeiro. Um quadro distinto foi observado na competição intra-específica, uma vez que hospedeiros submetidos a fêmeas nestas condições deram origem a mais adultos do que aqueles submetidos a fêmeas solitárias. No caso de *T. pretiosum*, hospedeiros parasitados por fêmeas em competição intra-específica originaram mais adultos do que fêmeas individualizadas ou em qualquer outra combinação.

A razão sexual de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* não foi afetada pelas competições intra e interespecíficas, contrariando a teoria da Competição por Acasalamento Local - CAL (“Local Mate Competition” ou LMC, HAMILTON, 1967), a qual sugere que quando uma fêmea parasitoide explora um grupo de hospedeiros (“patch”) solitariamente, ela deve produzir um número de machos suficiente apenas para garantir que todas as fêmeas que estão sendo produzidas sejam acasaladas, já que produzir um número excessivo de machos acabará causando competição entre eles, ao passo que fêmeas deixam de ser produzidas; todavia, quando duas ou mais fêmeas de parasitoides estão compartilhando um “patch”, quanto mais machos cada

uma delas produzir, maiores serão as chances de que um de seus descendentes - e não um descendente de outra fêmea - fertilize uma dada fêmea. Waage e Lane (1984), em experimentos com *T. evanescens*, também encontraram poucas evidências de que esta espécie se comporte de acordo com a teoria CAL, ao contrário de *T. chilonis* (SUZUKI; TSUJI; SASAKAWA, 1984), de *T. minutum* e de *T. pintoii* (MARTEL; BOIVIN, 2004); e de *T. remus*, como pôde-se observar no presente trabalho.

A presença de competidoras não impele as fêmeas de *T. remus* a abandonar a postura mais vezes, mas as incita a fazê-lo por mais tempo. Embora este fato não se traduza em menor taxa de parasitismo, fêmeas que passaram mais tempo na postura realizaram mais exames internos de hospedeiros. E a questão é: se todos os hospedeiros disponíveis já haviam sido explorados na 12ª inserção de ovipositor, por que continuar na mesma postura e re-examinar todos os hospedeiros por, pelo menos, mais três vezes cada um? De acordo com Field (1998), quando a qualidade de um grupo de hospedeiros (“patch”) declina, um novo grupo deve ser buscado. Há exceções a esta regra, embora as condições ecológicas associadas ao atraso no abandono de grupos de hospedeiros (“patches”) ainda não tenham sido investigadas. Desta forma, esta é uma questão complexa que ainda precisa ser estudada.

O fator competição também teve influência sobre as regiões preferidas tanto para exploração como para oviposição, a qual variou com a espécie. *T. remus* apresentou preferência por explorar ovos localizados na região central da massa de hospedeiros, enquanto *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* preferiram a região periférica, mas nem sempre estas preferências se traduziram em maiores taxas de oviposição nas regiões preferidas.

Para *T. atopovirilia*, por exemplo, a preferência por explorar hospedeiros periféricos deixou de existir quando uma competidora de qualquer espécie foi adicionada ao “patch”, o que pode ser traduzido como um efeito “super-lotação”, onde manter preferências que dão pouco ou nenhum retorno em um ambiente com escassez de recursos é uma estratégia depreciativa da aptidão (“fitness”). Assim, esta escassez de hospedeiros pode ter feito com que a distribuição da prole ocorresse de forma uniforme pelas regiões central e periférica da postura, já que os 30 minutos de teste foi tempo suficiente para que todos os hospedeiros fossem explorados e re-explorados. O

mesmo pode ter acontecido com *T. remus*, que apesar de explorar a parte central mais frequentemente, também distribuiu sua prole de forma uniforme nas duas regiões do “patch”, independentemente do tipo de competição ou da ausência dela. De qualquer forma, ao distribuir a prole uniformemente na postura, é possível que estas duas espécies contrariem a hipótese de Schmidt e Smith (1985), que tem como premissa de que hospedeiros circundados por outros hospedeiros e, conseqüentemente, com menor superfície exposta (ex.: centrais), recebem menor prole. Esta hipótese contraria o encontrado para *T. pretiosum*, em que fêmeas solitárias ou em competição intra-específica, além de explorarem preferencialmente hospedeiros da região periférica, também depositam maior prole em ovos desta região.

Em hospedeiros multiparasitados, o número de ovos depositado por cada espécie não parece ter ligação com a dominância da competição. Na interação *T. remus* vs. *T. atopovirilia*, por exemplo, ambas colocaram quantidades semelhantes de ovos em cada hospedeiro, havendo, contudo, dominância do tricogramatídeo. O inverso deste resultado foi constatado na interação *T. remus* vs. *T. pretiosum*, onde nenhuma das espécies mostrou dominância, apesar de *T. pretiosum* ter colocado uma quantidade significativamente superior de ovos por hospedeiro. Dados como estes são extremamente raros, uma vez que na maior parte dos estudos envolvendo competição interna entre parasitoides, o foco é colocado somente na dominância da competição, enquanto que a taxa de oviposição é deixada de lado.

Na interação envolvendo os tricogramatídeos não há dominância e, surpreendentemente, as duas espécies emergem de um mesmo hospedeiro multiparasitado a uma taxa de aproximadamente 50%, quando o multiparasitismo ocorre de forma simultânea. Apesar do multiparasitismo envolvendo espécies de *Trichogramma* já ser um fenômeno conhecido (VAN DEN BOSH; MESSENGER; GUTIERREZ, 1973), dados a respeito da emergência de mais de uma espécie deste gênero a partir de um único ovo hospedeiro são escassos na literatura mundial. Assim, mesmo tratando-se resultados coletados em laboratório, possivelmente esta é a primeira vez que a taxa de emergência simultânea de duas espécies de *Trichogramma* a partir de hospedeiros multiparasitados é relatada.

Os resultados da presente pesquisa atestam que a competição externa pode ter maior ou menor importância no comportamento de forrageamento de parasitoides de ovos. Estes dados podem contribuir para o planejamento de programas de controle biológico de pragas que visem à utilização destes organismos. Ficou clara a importância de se considerar as espécies de parasitoides já residentes na região de liberação, realizando-se estudos preliminares às liberações, para que seja avaliada a compatibilidade das espécies liberadas com as já residentes. Por este mesmo motivo, a liberação de combinações de espécies também deve ser pré-avaliada em condições de laboratório. Estes testes permitirão conhecer o efeito de uma espécie de parasitoide sobre a outra e, conseqüentemente, sobre a supressão de populações de pragas.

4.5 Conclusão

A sobrevivência e o comportamento de forrageamento de *Telenomus remus* Nixon 1937, *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner 1983 e *T. pretiosum* Riley 1879 são afetados pelas competições intra e/ou interespecíficas, sendo os efeitos destas competições peculiares para cada uma das espécies.

Referências

- 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**, Amsterdam, v. 64, p. 37-48, 1992.
- BESERRA, E.B.; PARRA, J.R.P. Impact of the number of *Spodoptera frugiperda* egg layers on parasitism by *Trichogramma atopovirilia*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, p. 190-193, 2005.
- BESERRA, E B.; DIAS, C.T.S.; PARRA, J.R.P. Distribution and natural parasitism of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs at different phenological stages of corn. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 85, p. 588-593, 2002.
- BIN, F.; JOHNSON, N.F. Potential of Telenominae in biocontrol with egg parasitoids (Hym., Scelionidae). **Les Colloques de l'INRA**, Antibes, v. 9, p. 275-289, 1982.
- BOGRÁN, C.E.; HEINZ, K.M.; CIOMPERLIK, M. Interspecific competition among insect parasitoids: field experiments with whiteflies as hosts in cotton. **Ecology**, New York, v. 83, p. 653-668, 2002.

- CAVE, R.D. Biology, ecology and use in pest management of *Telenomus remus*. **Biocontrol News and Information**, Wallingford, v. 21, p. 21-26, 2000.
- FIELD, S.A. Patch exploitation, patch-leaving and pre-emptive patch defense in the parasitoid wasp *Trissolcus basalus* (Insecta: Scelionidae). **Ethology**, Berlin, v. 104, p. 323-338, 1998.
- FISHER, R.C. A study in insect multiparasitism. **The Journal of Experimental Biology**, Cambridge, v. 38, p. 267-275, 1961.
- GAZIT, Y.; LEWIS, W.J.; TUMLINSON, J.H. Arrestment of *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae) by a kairomone associated with eggs of its host, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Biological Control**, San Diego, v. 6, p. 283-290, 1996.
- GERLING, D. The developmental biology of *Telenomus remus* Nixon (Hym.: Scelionidae). **Bulletin of Entomological Research**, New Delhi, v. 61, p. 385-488, 1972.
- GODFRAY, H.C.J. **Parasitoids: behavior and evolutionary ecology**. New Jersey: Princeton University Press, 1994. 473 p.
- HAMILTON, W.D. Extraordinary sex ratios. **Science**, Washington, v. 156, p. 477-488, 1967.
- MAHMOUD, A.M.A.; LIM, U.T. Host discrimination and interspecific competition of *Trissolcus nigripedius* and *Telenomus gifuensis* (Hymenoptera: Scelionidae), sympatric parasitoids of *Dolycoris baccarum* (Heteroptera: Pentatomidae). **Biological Control**, San Diego, v. 45, p. 337-343, 2008.
- MANDOUR, N.S.; MAHMOUD, M.F.; OSMAN, M.A.; QIU, B. Efficiency, intrinsic competition and interspecific host discrimination of *Copidosoma desantisi* and *Trichogramma evanescens*, two parasitoids of *Phthorimaea operculella*. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 18, p. 903-912, 2008.
- MARTEL, V.; BOIVIN, G. Pre-mating dispersion in the egg parasitoid *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Environmental Entomology**, College Park, v. 33, p. 855-859, 2004.
- MOLINA-OCHOA, J.; CARPENTER, J.E.; HEINRICHS, E.A.; FOSTER, J.E. Parasitoids and parasites of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas and Caribbean basin: an inventory. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 86, p. 254-289, 2003.
- ODUM, P.E.; BARRET, G.W. **Fundamentos de ecologia**. 5. ed. São Paulo: Thomson, 2007. 612 p.

- 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**, College Park, v. 27, p. 508-514, 1998.
- PARRA, J.R.P.; KOVALESKI, A. Avanços no Manejo Integrado de Pragas (MIP) no Brasil. In: PATERNIANI, E. (Ed.). **Ciência, agricultura e sociedade**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. p. 75-112.
- PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. *Trichogramma* in Brazil: feasibility of use after twenty years of research. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, p. 271-281, 2004.
- PETCHARAT, J.; LING, Z.; WEIQIU, Z.; ZAIFU, X.; QUISONG, W. Larval parasitoids of agromyzid leafminer genus *Liriomyza* in Southern Thailand: species and their host plants. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, Bangkok, v. 24, p. 467-472, 2002.
- SCHMIDT, J.M.; SMITH, J.J.B. Host examination walk and oviposition site selection of *Trichogramma minutum*: studies on spherical hosts. **Journal of Insect Behavioral**, New York, v. 2, p. 143-171, 1989.
- SCHWARTZ, A.; GERLING, D. Adult biology of *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae) under laboratory conditions. **Entomophaga**, Paris, v. 19, p. 482-492, 1974.
- SUJII, E.R.; COSTA, M.L.M.; PIRES, C.S.S.; COLAZZA, S.; BORGES, M. Inter and intra-guild interactions in egg parasitoid species of the soybean stink bug complex. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, p. 1541-1549, 2002.
- 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 Behaviour**, London, v. 32, p. 478-484, 1984.
- VAN DEN BOSH, R.; MESSENGER, P.S.; GUTIERREZ, A.P. **An introduction to biological control**. New York: Plenum, 1973. 247 p.
- WAAGE, J.K.; LANE, J.A. The reproductive strategy of a parasitic wasp. II. Sex allocation and local mate competition in *Trichogramma evanescens*. **Journal of Animal Ecology**, Malden, v. 53, p. 417-426, 1984.
- YAMAMOTO, D.; HENDERSON, R.; CORLEY, R.; IWABUCHI, K. Intrinsic, inter-specific competition between egg-, egg-larval, and larval parasitoids of plusine loopers. **Ecological Entomology**, Malden, v. 32, p. 221-228, 2007.
- 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. p. 121-150.

ZUCCHI, R.A.; QUERINO, R.B.; MONTEIRO, R.C. Diversity and hosts of *Trichogramma* in the new world, with emphasis in South America. In: CONSOLI, F.L.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.) **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis in *Trichogramma***. London: Springer, 2010. p. 219-236.

5 COMPETIÇÃO INTERNA DE TRÊS PARASITÓIDES DE OVOS DE *Spodoptera frugiperda*

Resumo

Competição é um fator-chave na ecologia de parasitóides e afeta indiretamente a supressão de populações de herbívoros. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da competição interna intra e interespecíficas de *Telenomus remus* Nixon 1937 (Hymenoptera: Scelionidae), *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner 1983 e *T. pretiosum* Riley 1879 (Hym.: Trichogrammatidae) em ovos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), sobre a sobrevivência destas espécies. *T. atopovirilia* dominou a competição com *T. remus* e com *T. pretiosum* sempre que foi a primeira espécie a parasitar. Além disso, *T. atopovirilia* foi a única, dentre as três espécies de parasitoides, que foi capaz de dominar a competição mesmo competindo com larvas de *T. remus* e *T. pretiosum* em instar mais adiantado. Desta forma, dentre as três espécies de parasitoides estudadas, *T. atopovirilia* é a que apresenta maior probabilidade de sobrevivência quando em competição interespecífica. Emergência de duas espécies de *Trichogramma* a partir de um único ovo hospedeiro foi observada independentemente da espécie a realizar a primeira oviposição.

Palavras-chave: *Trichogramma pretiosum*; *T. atopovirilia*; *Telenomus remus*; Interação intra-guilda

Abstract

Competition is a key factor in the ecology of parasitoids, and indirectly affects the suppression of herbivore populations. The aim of this study was to describe the effects of intrinsic intra- and interspecific competition among *Telenomus remus* Nixon 1937 (Hymenoptera: Scelionidae), *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner 1983, and *T. pretiosum* Riley 1879 (Hym.: Trichogrammatidae) on the survivorship of these parasitoid wasp species, using *Spodoptera frugiperda* eggs (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) as hosts. *T. atopovirilia* always dominated competition with *T. remus* and with *T. pretiosum* when it was the first species to parasitize the eggs. Moreover, *T. atopovirilia* was the only species able to dominate competition when it was the second parasitizing species. Therefore, of these well-studied parasitoid species, *T. atopovirilia* has the highest likelihood of survival in interspecific competition. Emergence of two *Trichogramma* species from a single host egg was observed, regardless of which species was the first to parasitize the egg.

Keywords: *Trichogramma pretiosum*; *T. atopovirilia*; *Telenomus remus*; Intraguild interaction

5.1 Introdução

Competição entre inimigos naturais é um fator-chave em sistemas tri-tróficos planta-herbívoro-inimigo natural e pode ter grande importância sobre a dinâmica de

populações de pragas (BOGRÁN et al., 2002; FERGUSON; STILING, 1996). No caso de parasitoides, a competição pode ocorrer entre adultos no nível de busca hospedeira e é conhecida como competição externa; e entre larvas de parasitoides se desenvolvendo dentro de um único hospedeiro, sendo conhecida como competição interna (GODFRAY, 1994).

De acordo com De Moraes et al. (1999), De Moraes e Mescher (2005) Strand (1986) e Godfray (1994), a ordem de oviposição de cada fêmea e o estágio de desenvolvimento da prole da primeira fêmea quando a segunda deposita sua prole no hospedeiro são fatores determinantes para o resultado da competição interna. Assim, ao ovipositar em um hospedeiro já parasitado, uma determinada espécie de parasitoide pode tanto competir igualmente com a espécie já residente, como dominá-la ou ser dominada por ela.

Em agroecossistemas, é comum a presença de múltiplas espécies de parasitoides competindo por um ou mais hospedeiros (MANDOUR et al., 2008; YAMAMOTO et al., 2007; PETCHARAT et al., 2002). No Brasil, *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner 1983 e *T. pretiosum* Riley 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) foram relatados compartilhando espécies hospedeiras (BESERRA; DIAS; PARRA, 2002; ZUCCHI; MONTEIRO, 1997). Mais recentemente, estas duas espécies de parasitoides de ovos e *Telenomus remus* Nixon 1937 (Hym.: Scelionidae) foram coletadas compartilhando posturas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) em um milho (vide Capítulo 3). Estes fatos atestam que, em condições de campo, estas três espécies de parasitoides efetivamente competem por ovos de *S. frugiperda*, e, por terem sido observadas sobre uma mesma massa de ovos, é possível que haja competição interna.

O conhecimento dos resultados da competição entre inimigos naturais é de elevada importância para o controle biológico (DENOTH et al., 2002). Desta forma, o objetivo deste trabalho foi descrever os efeitos da competição interna intra e interespecíficas de *T. remus*, *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* em ovos de *S. frugiperda*, sobre a sobrevivência destas espécies, com vistas à estudos de liberação em campo de uma ou mais espécies, dependendo dos resultados da competição em laboratório, para controle de *S. frugiperda*.

5.2 Material e métodos

5.2.1 Insetos

Ovos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) e fêmeas dos parasitoides *Telenomus remus* Nixon 1937, *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner 1983 e *T. pretiosum* Riley 1879 foram obtidos a partir de criações de laboratório, conforme descrições nos itens 2.3.1 e 3.2.1, respectivamente.

Utilizaram-se ovos de *S. frugiperda* com até 12h de desenvolvimento embrionário e fêmeas parasitoides de 3 dias de idade, acasaladas, sem experiência de oviposição (“naive”) e alimentadas com mel de abelha puro. Os ovos foram fixados em cartelas de papel sulfite (1x1 cm), de acordo com a metodologia descrita no item 4.2, uma hora antes da instalação dos bioensaios. Os parasitoides foram individualizados em tubos de ensaio (1,2 x 7 cm) fechados com filme de PVC (policloreto de vinila) e mantidos em câmara climatizada ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ de U.R. e 14 horas de fotofase) até a instalação dos bioensaios.

5.2.2 Procedimentos experimentais

Cartelas (n=14) parasitadas com antecedência de 1, 6, 12, 18 ou 24 horas por fêmeas individualizadas de *T. remus*, *T. atopovirilia* ou *T. pretiosum* foram oferecidas a novas fêmeas também individualizadas das três espécies de parasitóide. Desta forma, cada massa de ovos foi submetida ao parasitismo de duas fêmeas co ou hétero-específicas. Cartelas (n=14) com ovos não parasitados (controle) também foram oferecidas para cada uma das três espécies de parasitoides.

Tanto para a primeira como para a segunda fêmea, o parasitismo foi permitido por 30 minutos, contados a partir do encontro entre a fêmea e a massa de ovos. Durante este período a exploração dos ovos pelas fêmeas foi monitorada e as massas exploradas por menos de 10 minutos foram eliminadas. No intervalo entre os parasitismos da primeira e segunda fêmea, as cartelas foram acondicionadas em placas de Petri (7 cm diâmetro) mantidas em câmara climatizada ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ de UR e 14 horas de fotofase). Imediatamente após o parasitismo da segunda fêmea, os ovos foram individualizados e fixados em cartelas de papel sulfite (1 x 1,5 cm) com auxílio de pincel fino (nº 000) umedecido em água destilada. As cartelas foram então

aconditionadas em tubos do tipo eppendorf® (1,5 ml) e mantidas em câmara climatizada ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ de UR e 14 horas de fotofase) até a emergência dos adultos. Avaliaram-se o número, espécie e sexo dos adultos emergidos, assim como o número de ovos inviáveis. Ao todo foram realizados três bioensaios (Tabela 5.1).

5.2.3 Análise

Para conjuntos de dados com distribuição normal e homocedásticos, aplicou-se ANOVA, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ($\alpha=0,05$). Para os demais casos, foi empregado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, sendo as médias comparadas pelo método de Dunn ($\alpha=0,05$).

Tabela 5.1 - Sequência dos bioensaios e ordem de parasitismo de ovos de *Spodoptera frugiperda* por *Telenomus remus*, *Trichogramma atopovirilia* e/ou *T. pretiosum*

Bioensaio	Ordem de parasitismo/espécie	
	1º parasitismo (1, 6, 12, 18 ou 24h de antecedência)	2º parasitismo ¹
1	<i>Telenomus remus</i>	
	<i>Trichogramma atopovirilia</i>	<i>T. remus</i>
	<i>Trichogramma pretiosum</i>	
2	<i>T. remus</i>	
	<i>T. atopovirilia</i>	<i>T. atopovirilia</i>
	<i>T. pretiosum</i>	
3	<i>T. remus</i>	
	<i>T. atopovirilia</i>	<i>T. pretiosum</i>
	<i>T. pretiosum</i>	

¹Nesta mesma ocasião, em cada bioensaio, foram oferecidas cartelas (n=14) de ovos não parasitados (tratamentos controle) a fêmeas de *T. remus*, *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*.

5.3 Resultados

5.3.1 Bioensaio 1 - *T. remus*, *T. atopovirilia* ou *T. pretiosum* versus *T. remus*

Ao competir com *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner 1983, *Telenomus remus* Nixon 1937 emergiu apenas quando ovipositou 1h após o tricogramatídeo, que dominou a competição com em todos os intervalos estudados

(Figura 5.1). Competindo com *T. pretiosum* Riley 1879, *T. remus* foi bem mais sucedido do que quando competiu com *T. atopovirilia*, sendo capaz de emergir em todos os intervalos estudados entre 24 a 50%. Contudo, *T. remus* não foi capaz de dominar a competição em nenhum dos intervalos (Figura 5.1).

Invariavelmente apenas um adulto de *T. remus* emergiu por ovo hospedeiro. Para *T. pretiosum* este valor variou de 1,2 a 1,4 indivíduos/ovo; e para *T. atopovirilia* este número foi variável de 1 a 1,3; não foram observadas diferenças significativas entre as médias dos intervalos para nenhuma das espécies (*T. pretiosum*: ANOVA, $p=0,19$; *T. atopovirilia*: Kruskal-Wallis, $p=0,20$) (Tabela 5.2).

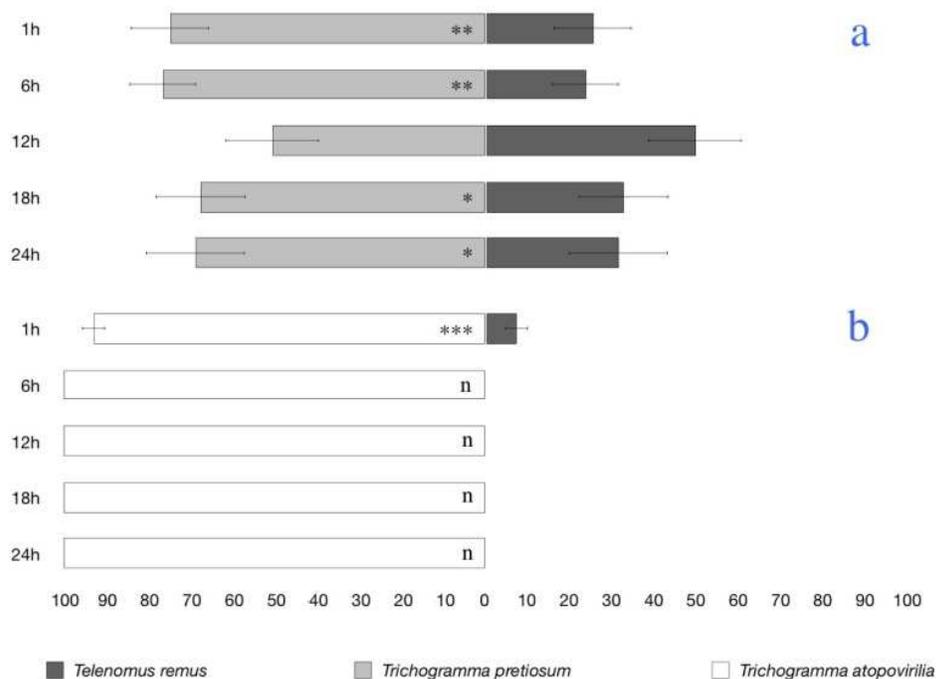


Figura 5.1 - Emergência (%) de *Telenomus remus*, *Trichogramma pretiosum* e *T. atopovirilia* a partir de hospedeiros multiparasitados quando (a) *T. pretiosum* e (b) *T. atopovirilia* foram os primeiros a ovipositar. Horas indicam o tempo entre a primeira e a segunda oviposição. Asteriscos indicam diferenças significativas entre os tratamentos (ANOVA, * $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$; n= análise não realizada)

Tabela 5.2 - Número de adultos de *Telenomus remus*, *Trichogramma atopovirilia* e *T. pretiosum* emergidos por ovo hospedeiro (*Spodoptera frugiperda*) parasitado por fêmeas destas espécies em combinações duplas*

	Adultos de <i>Telenomus remus</i>											
	Quando <i>T. remus</i> é a primeira a parasitar						Quando <i>T. remus</i> é a segunda a parasitar					
	1h 0m 0s	6h 0m 0s	12h 0m 0s	18h 0m 0s	24h 0m 0s	Média	1h 0m 0s	6h 0m 0s	12h 0m 0s	18h 0m 0s	24h 0m 0s	Média
<i>T. remus</i> vs. <i>T. remus</i>	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1
<i>T. remus</i> vs. <i>T. atopovirilia</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>T. remus</i> vs. <i>T. pretiosum</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Controle (somente <i>T. remus</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1

	Adultos de <i>Trichogramma atopovirilia</i>											
	Quando <i>T. atopovirilia</i> é a primeira a parasitar						Quando <i>T. atopovirilia</i> é a segunda a parasitar					
	1h 0m 0s	6h 0m 0s	12h 0m 0s	18h 0m 0s	24h 0m 0s	Média	1h 0m 0s	6h 0m 0s	12h 0m 0s	18h 0m 0s	24h 0m 0s	Média
<i>T. atopovirilia</i> vs. <i>T. remus</i>	1,1±0,05 a	1,3±0,08 a	1,1±0,04 a	1,1±0,07 a	1,1±0,09 a	1,1±0,06	1,3±0,15 a	1,4±0,10 a	1,3±0,11 a	1,3±0,12 a	1,1±0,08 a	1,3±0,05 A
<i>T. atopovirilia</i> vs. <i>T. atopovirilia</i>	-	-	-	-	-	-	1,6±0,10 ab	1,9±0,09 a	1,3±0,04 bc	1,3±0,07 bc	1,1±0,04 c	1,4±0,05 B
<i>T. atopovirilia</i> vs. <i>T. pretiosum</i>	1,2±0,09 a	1,1±0,09 a	1,2±0,08 a	1,3±0,11 a	1,1±0,11 a	1,2±0,08	1,1±0,03 a	1,1±0,07 a	1,1±0,05 a	1,0±0,0 a	1,0±0,02 a	1,1±0,03 A
Controle (somente <i>T. atopovirilia</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,2±0,06 AB

	Adultos de <i>Trichogramma pretiosum</i>											
	Quando <i>T. pretiosum</i> é a primeira a parasitar						Quando <i>T. pretiosum</i> é a segunda a parasitar					
	1h 0m 0s	6h 0m 0s	12h 0m 0s	18h 0m 0s	24h 0m 0s	Média	1h 0m 0s	6h 0m 0s	12h 0m 0s	18h 0m 0s	24h 0m 0s	Média
<i>T. pretiosum</i> vs. <i>T. remus</i>	1,2±0,06 a	1,3±0,09 a	1,4±0,11 a	1,2±0,07 a	1,4±0,08 a	1,3±0,07	1,1±0,13 a	1,1±0,10 a	1,1±0,10 a	1,1±0,09 a	1,1±0,13 a	1,1±0,03 a
<i>T. pretiosum</i> vs. <i>T. atopovirilia</i>	1,1±0,06 a	1,4±0,09 a	1,2±0,09 a	1,6±0,10 a	1,3±0,07 a	1,3±0,06	1,3±0,04 a	1,1±0,04 a	1,1±0,07 a	1,3±0,12 a	1,3±0,11 a	1,2±0,04 a
<i>T. pretiosum</i> vs. <i>T. pretiosum</i>	-	-	-	-	-	-	1,7±0,14 a	1,3±0,08 ab	1,3±0,09 ab	1,5±0,16 ab	1,2±0,07 b	1,4±0,05 b
Controle (somente <i>T. pretiosum</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,2±0,06 ab

*Controle: ovos de *S. frugiperda* não parasitados. Horas representam o intervalo de tempo entre a primeira e a segunda oviposição. Letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (letras maiúsculas: comparação entre colunas; letras minúsculas: comparação entre linhas) - ANOVA ou Kruskal-Wallis, $p < 0,05$).

A mortalidade de parasitoides imaturos não foi afetada pelo intervalo entre as oviposições (*T. remus* + *T. remus*: ANOVA, $p=0,53$; *T. pretiosum* + *T. remus*: Kruskal-Wallis, $p=0,92$; *T. atopovirilia* + *T. remus*: Kruskal-Wallis, $p=0,14$). Ademais, a mortalidade de imaturos em hospedeiros submetidos ao parasitismo de duas fêmeas foi semelhante à dos submetidos a apenas uma, independentemente da espécie da primeira fêmea a parasitar (Tabela 5.3). Combinando-se dados de todos os intervalos, constatou-se que a competição de *T. remus* com *T. atopovirilia* gerou menor mortalidade de imaturos do que a competição intraespecífica (Kruskal-Wallis, $p=0,0007$) (Tabela 5.3).

A razão sexual de adultos de *T. remus* não variou significativamente com o intervalo de oviposição na competição com *T. remus* (ANOVA, $p=0,20$) ou com *T. pretiosum* (ANOVA, $p=0,65$); na competição com *T. atopovirilia* a comparação não pôde ser realizada, já que ocorreu emergência em apenas um dos intervalos. Combinando-se os dados dos intervalos, pôde-se notar maior proporção de machos na competição

intraespecífica quando em comparação com a competição com *T. atopovirilia*, e com ovos não parasitados (Kruskal-Wallis, $p < 0,0001$) (Tabela 5.4). Assim como observado para *T. remus*, o intervalo de oviposição também não afetou a razão sexual de *Trichogramma* (*T. pretiosum*: ANOVA, $p = 0,93$; *T. atopovirilia*: Kruskal-Wallis, $p = 0,58$) (Tabela 5.4).

Tabela 5.3 - Mortalidade de imaturos de *Telenomus remus*, *Trichogramma atopovirilia* e *T. pretiosum* em hospedeiros (ovos de *Spodoptera frugiperda*) parasitados por fêmeas destas espécies em combinações duplas*

	Mortalidade <i>Telenomus remus</i>						
	Controle	1h 0m 0s	6h 0m 0s	12h 0m 0s	18h 0m 0s	24h 0m 0s	Média
<i>T. remus</i> vs. <i>T. remus</i>	18,5±7,34 a	17,9±4,85 a	26,7±5,01 a	14,0±4,17 a	13,3±4,03 a	21,3±5,56 a	18,6±2,22 A
<i>T. remus</i> vs. <i>T. atopovirilia</i>	5,4±2,46 a	21,3±6,99 a	7,1±2,85 a	4,1±2,23 a	3,3±2,35 a	3,6±3,57 a	7,5±1,7 B
<i>T. remus</i> vs. <i>T. pretiosum</i>	12,3±4,36 a	13,3±5,01 a	6,5±2,24 a	16,1±5,32 a	11,9±3,22 a	11,0±3,78 a	11,9±1,7 AB
	Mortalidade <i>Trichogramma atopovirilia</i>						
	Controle	1h 0m 0s	6h 0m 0s	12h 0m 0s	18h 0m 0s	24h 0m 0s	Média
<i>T. atopovirilia</i> vs. <i>T. remus</i>	13,2±7,15 ab	33,7±6,23 a	19,7±5,74 ab	28,0±4,27 ab	9,9±3,07 b	29,2±4,25 ab	22,2±2,34 A
<i>T. atopovirilia</i> vs. <i>T. atopovirilia</i>	12,8±4,02 a	10,1±3,82 a	38,6±5,88 b	22,7±3,68 ab	16,3±5,14 ab	5,9±1,92 a	17,8A±2,05 B
<i>T. atopovirilia</i> vs. <i>T. pretiosum</i>	6,7±2,89 a	10,3±2,92 ab	12,6±3,87 ab	13,1±3,56 ab	23,6±4,65 b	8,6±2,59 a	12,5±1,51 B
	Mortalidade <i>Trichogramma pretiosum</i>						
	Controle	1h 0m 0s	6h 0m 0s	12h 0m 0s	18h 0m 0s	24h 0m 0s	Média
<i>T. pretiosum</i> vs. <i>T. remus</i>	13,1±5,8 a	14,2±4,6 a	12,6±3,9 a	9,1±3,1 a	10,9±1,4 a	15,4±4,3 a	12,5±1,8 A
<i>T. pretiosum</i> vs. <i>T. atopovirilia</i>	9,7±3,2 a	4,9±1,9 a	14,4±5,2 a	12,1±4,4 a	21,9±6,1 a	10,2±3,4 a	12,3±1,8 A
<i>T. pretiosum</i> vs. <i>T. pretiosum</i>	20,2±4,8 a	20,9±5,2 a	2,9±2,1 a	4,4±2,5 a	2,0±1,4 a	8,5±4,3 a	9,8±1,7 A

*Controle: ovos de *S. frugiperda* não parasitados. Horas representam o intervalo de tempo entre a primeira e a segunda oviposição. Letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (letras maiúsculas: comparação entre colunas; letras minúsculas: comparação entre linhas) - ANOVA ou Kruskal-Wallis, $p < 0,05$).

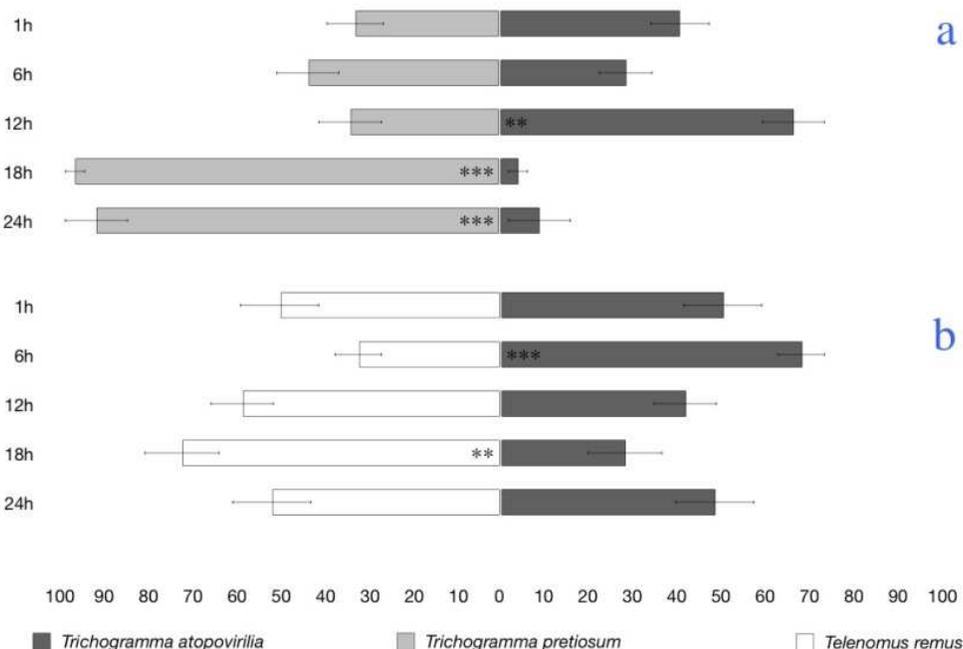


Figura 5.2 - Emergência (%) de *Trichogramma atopovirilia*, *T. pretiosum* e *Telenomus remus* a partir de hospedeiros multiparasitados quando (a) *T. pretiosum* e (b) *T. remus* foram os primeiros a ovipositar. Horas indicam o tempo entre a primeira e a segunda oviposição. Asteriscos indicam diferenças significativas entre os tratamentos (ANOVA, ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$)

Tabela 5.4 - Razão sexual de *Telenomus remus*, *Trichogramma atopovirilia* e *T. pretiosum* emergidos a partir de hospedeiros (ovos de *Spodoptera frugiperda*) parasitados por fêmeas destas espécies em combinações duplas*

	Telenomus remus											
	Primeira						Segunda					
	1h 0m 0s	6h 0m 0s	12h 0m 0s	18h 0m 0s	24h 0m 0s	Média	1h 0m 0s	6h 0m 0s	12h 0m 0s	18h 0m 0s	24h 0m 0s	Média
T. remus vs. T. remus	-	-	-	-	-	-	0,44±0,09 a	0,53±0,07 a	0,67±0,08 a	0,41±0,07 a	0,58±0,11 a	0,52±0,04 A
T. remus vs. T. atopovirilia	0,55±0,12 a	0,81±0,05 a	0,76±0,07 a	0,77±0,05 a	0,66±0,08 a	0,71±0,05	1,0±0,0	-	-	-	-	1,0±0,0 B
T. remus vs. T. pretiosum	0,86±0,05 a	0,83±0,10 a	0,70±0,09 a	0,71±0,05 a	0,80±0,05 a	0,78±0,05	0,47±0,14 a	0,76±0,11 a	0,61±0,09 a	0,66±0,10 a	0,69±0,10 a	0,64±0,06 AB
Controle (somente T. remus)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,82±0,06 B

	Trichogramma atopovirilia											
	Primeira						Segunda					
	1h 0m 0s	6h 0m 0s	12h 0m 0s	18h 0m 0s	24h 0m 0s	Média	1h 0m 0s	6h 0m 0s	12h 0m 0s	18h 0m 0s	24h 0m 0s	Média
T. atopovirilia vs. T. remus	0,85±0,04 a	0,81±0,04 a	0,87±0,02 a	0,86±0,03 a	0,78±0,05 a	0,83±0,03	0,89±0,03 a	0,83±0,04 a	0,86±0,08 a	0,86±0,05 a	0,78±0,08 a	0,85±0,03 A
T. atopovirilia vs. T. atopovirilia	-	-	-	-	-	-	0,76±0,03 a	0,73±0,05 a	0,75±0,04 a	0,84±0,03 ab	0,91±0,02 b	0,80±0,02 A
T. atopovirilia vs. T. pretiosum	0,73±0,07 a	0,74±0,06 a	0,68±0,11 a	0,63±0,12 a	0,65±0,10 a	0,69±0,06	0,81±0,04 a	0,79±0,05 a	0,78±0,04 a	1,0±0,0 a	0,92±0,03 a	0,81±0,02 A
Controle (somente T. atopovirilia)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,86±0,03 A

	Trichogramma pretiosum											
	Primeira						Segunda					
	1h 0m 0s	6h 0m 0s	12h 0m 0s	18h 0m 0s	24h 0m 0s	Média	1h 0m 0s	6h 0m 0s	12h 0m 0s	18h 0m 0s	24h 0m 0s	Média
T. pretiosum vs. T. remus	0,72±0,08 a	0,66±0,09 a	0,60±0,10 a	0,73±0,08 a	0,72±0,05 a	0,68±0,08	0,49±0,11 a	0,52±0,09 a	0,67±0,11 a	0,69±0,09 a	0,79±0,08 a	0,63±0,06 A
T. pretiosum vs. T. atopovirilia	0,57±0,08 a	0,70±0,07 a	0,65±0,08 a	0,71±0,05 a	0,73±0,05 a	0,67±0,05	0,73±0,07 a	0,75±0,06 a	0,82±0,04 a	0,75±0,08 a	0,77±0,07 a	0,59±0,06 A
T. pretiosum vs. T. pretiosum	-	-	-	-	-	-	0,62±0,05 a	0,67±0,07 a	0,62±0,06 a	0,69±0,05 a	0,66±0,08 a	0,64±0,03 A
Controle (somente T. pretiosum)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,49±0,09 A

*Controle: ovos de *S. frugiperda* não parasitados. Horas representam o intervalo de tempo entre a primeira e a segunda oviposição. Letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (letras maiúsculas: comparação entre colunas; letras minúsculas: comparação entre linhas) - ANOVA ou Kruskal-Wallis, $p < 0,05$.

5.3.2 Bioensaio 2 - *T. remus*, *T. atopovirilia* ou *T. pretiosum* versus *T. atopovirilia*

Ao ovipositar com 18 e 24h de antecedência a *T. atopovirilia*, *T. pretiosum* foi a única espécie a emergir a partir de mais de 90% dos hospedeiros multiparasitados (ANOVA, $p < 0,001$). Ovipositando com menor antecedência (1, 6 ou 12h), *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* ou competiram igualmente ou a competição foi dominada por *T. atopovirilia* (Figura 5.2). Nos menores intervalos entre a primeira e segunda oviposição (1 e 6h), constatou-se a emergência das duas espécies de *Trichogramma* a partir de um único ovo hospedeiro, com uma percentagem entre 27 e 28% (Figura 5.3).

Resultados bem menos claros foram obtidos na interação *T. atopovirilia* versus *T. remus*, já que valores de igualdade e dominância da competição intercalaram-se ao longo dos intervalos (Figura 5.2), com *T. atopovirilia* e *T. remus* dominando a competição, respectivamente, em 6 e 18h após o parasitismo de *T. remus*. Nos demais intervalos, *T. atopovirilia* e *T. remus* competiram em igualdade, não observando-se dominância de nenhuma das espécies.

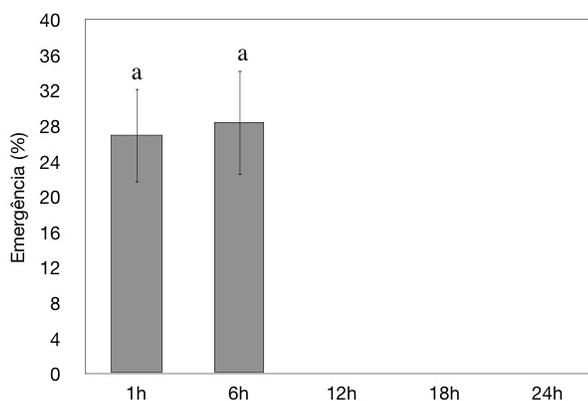


Figura 5.3 - Percentagem de emergência conjunta de *Trichogramma atopovirilia* e *T. pretiosum* a partir de um único ovo hospedeiro (*Spodoptera frugiperda*), quando *T. atopovirilia* foi a segunda espécie a ovipositar. Horas indicam o tempo entre a primeira e a segunda oviposição. Letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (Kruskal-Wallis, $p < 0,0001$)

O número de adultos de *T. atopovirilia* emergidos por ovo hospedeiro não variou com os intervalos de oviposição nas competições com *T. pretiosum* (Kruskal-Wallis, $p = 0,35$) e com *T. remus* (ANOVA, $p = 0,59$). Por outro lado, na competição intra-específica, constatou-se um número significativamente inferior de adultos no intervalo de 24h, quando em comparação com os intervalos de 1 e 6h (Kruskal-Wallis,

$p < 0,0001$). Agrupando-se dados de todos os intervalos em cada combinação de espécies, observou-se que o número de adultos emergidos por ovo hospedeiro na competição intra-específica foi semelhante ao observado no controle (ovos parasitados apenas por *T. atopovirilia*) e superior ao constatado nas competições interespecíficas (Kruskal-Wallis, $p < 0,0001$) (Tabela 5.2). Para *T. remus*, como no bioensaio anterior, invariavelmente apenas um adulto emergiu por ovo hospedeiro, enquanto que para *T. pretiosum* não constataram-se diferenças significativas entre os intervalos (ANOVA, $p = 0,07$).

A mortalidade de parasitoides imaturos variou bastante entre os intervalos nas competições intra e interespecíficas (Tabela 5.3). Na competição *T. atopovirilia* vs. *T. atopovirilia*, por exemplo, a mortalidade foi significativamente superior no intervalo de 12h em relação àqueles de 1, 6 e 24h (Kruskal-Wallis, $p = 0,0006$); já na competição de *T. atopovirilia* com *T. pretiosum* e *T. remus*, o intervalo de 18h foi o que propiciou, respectivamente, a maior (ANOVA, $p = 0,02$) e menor (ANOVA, $p = 0,012$) taxa de mortalidade dentro de cada combinação de espécies (Tabela 5.3). O agrupamento dos dados de todos os intervalos dentro de cada combinação de espécies mostrou que a competição *T. remus* vs. *T. atopovirilia* gerou uma mortalidade significativamente superior à observada na competição entre as duas espécies de tricogramatídeos (Kruskal-Wallis, $p = 0,02$). Apesar disso, foi observado que as mortalidades das competições interespecíficas não diferenciaram daquela constatada na competição intra-específica (Tabela 5.3).

As razões sexuais de *T. atopovirilia* não variaram com os intervalos de oviposição nas competições com *T. pretiosum* (Kruskal-Wallis, $p = 0,16$) e com *T. remus* (Kruskal-Wallis, $p = 0,75$) (Tabela 5.4). Tampouco variaram as razões sexuais dos adultos de *T. pretiosum* (ANOVA, $p = 0,55$) e de *T. remus* (ANOVA, $p = 0,28$) emergidos a partir destas mesmas condições competitivas (Figura 5.12). Em contrapartida, na competição intra-específica, uma proporção significativamente maior de fêmeas foi encontrada no intervalo de 24h, quando em comparação com os intervalos de 1, 6 e 12h (ANOVA, $p = 0,004$) (Tabela 5.4). A análise dos dados de todos os intervalos agrupados dentro de cada combinação de espécies revelou uma razão sexual média de 0,8; 0,81 e 0,85; respectivamente para as competições de *T. atopovirilia* com *T.*

atopovirilia, *T. pretiosum* e *T. remus*, respectivamente valores que não diferiram significativamente entre si (Kruskal-Wallis, $p=0,08$) (Tabela 5.4).

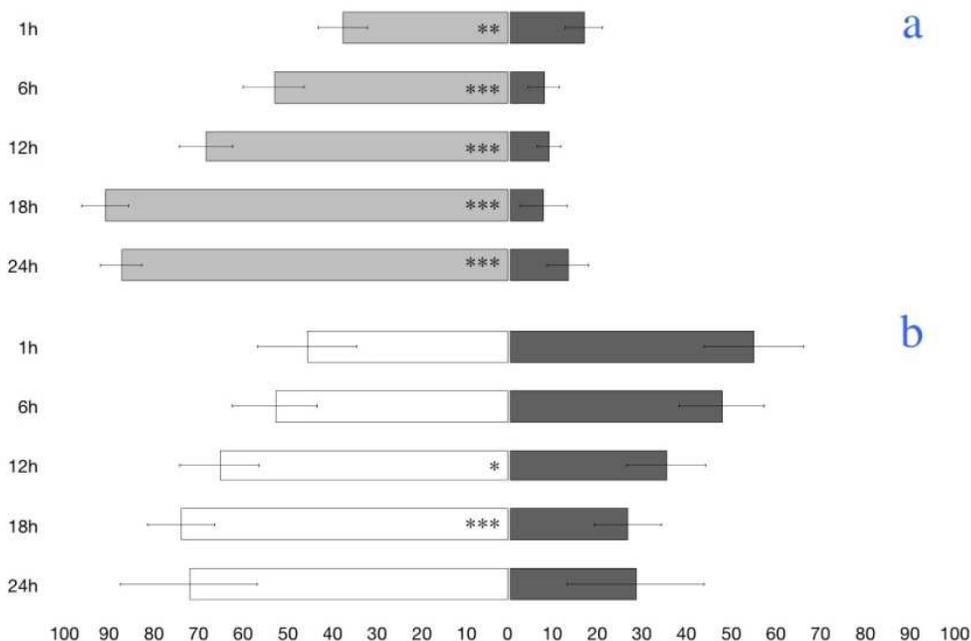


Figura 5.4 - Emergência (%) de *Trichogramma pretiosum*, *T. atopovirilia* e *Telenomus remus* quando (a) *T. atopovirilia* e (b) *T. remus* foram os primeiros a ovipositar. Horas indicam o tempo entre a primeira e a segunda oviposição. Asteriscos indicam diferenças significativas entre os tratamentos (a - 1h: ANOVA, $p=0,008$; 6h: Kruskal-Wallis, $p<0,0001$; 12h: Kruskal-Wallis, $p<0,0001$; 18h: ANOVA, $p<0,0001$; 24h: Kruskal-Wallis, $p<0,0001$; b - ANOVA, 1h: $p=0,55$; 6h: $p=0,75$; 12h: $p=0,02$; 18h: $p=0,0004$; 24h: $p=0,07$)

5.3.3 Bioensaio 3 - *T. remus*, *T. atopovirilia* ou *T. pretiosum* versus *T. pretiosum*

Quando *T. atopovirilia* ovipositou antes de *T. pretiosum*, esta última espécie foi incapaz de dominar a competição em todos os intervalos de tempo estudados, apesar de ter sido capaz de emergir em todos os intervalos a taxas que variaram de 8 a 17%. As taxas de emergência de *T. atopovirilia*, por sua vez, se elevaram com o intervalo entre as duas oviposições, atingindo valores que variaram de 37 a 90% (Figura 5.4). Observou-se emergência conjunta de adultos de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* a partir de um único ovo hospedeiro nos intervalos de 1 a 18h, a valores variáveis de 48 a 2%, respectivamente. As taxas de emergência simultânea de duas espécies foram mais altas, contudo, entre os intervalos de 1 e 12h (Figura 5.5).

De forma análoga ao observado na competição com *T. atopovirilia*, ao interagir internamente com *T. remus*, a espécie *T. pretiosum* também foi capaz de emergir em todos os intervalos de oviposição estudados, apesar de ter se mostrado incapaz de dominar a competição em qualquer dos intervalos. Por outro lado, ao competir com *T. remus*, *T. pretiosum* apresentou taxas de emergência que variaram de 27 a 55%, valores aparentemente superiores aos obtidos quando competiu com *T. atopovirilia* (Figura 5.4). Para *T. remus*, as taxas de emergência também se elevaram com o intervalo entre as oviposições, variando de 45 a 73%, sendo que ao ovipositar com 12 ou 18 horas de antecedência a *T. pretiosum*, *T. remus* foi capaz de dominar a competição interna, com emergência entre 64 e 73%, respectivamente (Figura 5.4). No intervalo de 24h, a taxa de emergência de *T. remus* foi de 71%, quase o triplo da apresentada por *T. pretiosum* e bastante similar à observada em *T. remus* no intervalo de 18h. Todavia, provavelmente devido à alta variabilidade dos dados, não foram constatadas diferenças significativas entre as taxas de emergência de ambas espécies, neste intervalo.

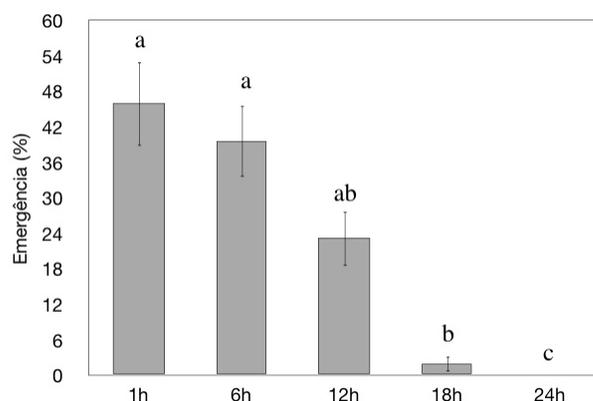


Figura 5.5 - Emergência (%) conjunta de *Trichogramma pretiosum* e *T. atopovirilia* a partir de um único ovo hospedeiro (*Spodoptera frugiperda*), quando *T. pretiosum* foi a segunda espécie a ovipositar. Horas indicam o tempo entre a primeira e a segunda oviposição. Letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (Kruskal-Wallis, $p < 0,0001$)

Assim como o observado no bioensaio 2, quando a segunda fêmea a parasitar foi sempre da espécie *T. atopovirilia*, o número de adultos de *T. pretiosum* emergidos de cada ovo hospedeiro não variou entre os diferentes intervalos de

oviposição nas competições interespecíficas (Kruskal-Wallis - *T. atopovirilia* + *T. pretiosum*: $p=0,45$; *T. remus* + *T. pretiosum*: $p=0,91$). Todavia, na competição intra-específica, observou-se uma emergência significativamente menor no intervalo de 24h do que aquela de 1h (Kruskal-Wallis, $p<0,0001$) (Tabela 5.2). Além disto, agrupando-se os dados de todos os intervalos de cada combinação de espécies, foi obtido resultado idêntico ao observado no bioensaio 2, onde o número de adultos emergidos por ovo hospedeiro foi menor nas competições interespecíficas do que na intraespecífica, cujo resultado não diferiu significativamente do controle (ovos de *S. frugiperda* parasitados por apenas uma fêmea de *T. pretiosum*) (Figura 5.15). O número de adultos de *T. atopovirilia* emergidos por ovo hospedeiro na competição interna com *T. pretiosum* não variou significativamente com o intervalo de oviposição (Kruskal-Wallis, $p=0,60$) (Tabela 5.2). Para *T. remus*, da mesma forma que nos bioensaios anteriores, constatou-se a emergência de apenas um adulto por ovo hospedeiro, em todos os intervalos de oviposição estudados.

Em ovos de *S. frugiperda* parasitados apenas por uma fêmea (controle), as percentagens de mortalidade de imaturos foram 9,7; 13,1 e 20,2%; respectivamente, para *T. atopovirilia*, *T. remus* e *T. pretiosum*. Este parâmetro não foi afetado pelo intervalo de oviposição nem na competição intraespecífica (Dunn, $p>0,05$) e nem nas interespecíficas (*T. atopovirilia* + *T. pretiosum*: Kruskal-Wallis, $p=0,50$; *T. remus* + *T. pretiosum*: ANOVA, $p=0,92$). Diferenças significativas não foram constatadas também quando agruparam-se os dados de todos os intervalos dentro de cada combinação de espécies (ANOVA, $p=0,59$) (Tabela 5.3).

A razão sexual de *T. pretiosum* emergidos em competições intra e interespecíficas variou de 0,49 a 0,82, não sendo constatadas diferenças significativas para este parâmetro entre os intervalos de oviposição dentro de cada combinação de espécies (*T. pretiosum* + *T. pretiosum*: ANOVA, $p=0,96$; *T. atopovirilia* + *T. pretiosum*: ANOVA, $p=0,73$; *T. remus* + *T. pretiosum*: ANOVA, $p=0,28$) (Tabela 5.4). Após agruparem-se os dados de todos os intervalos dentro de cada combinação de espécies, também não observaram-se diferenças significativas para este parâmetro entre as diferentes combinações (Kruskal-Wallis, $p=0,34$) (Tabela 5.4). O intervalo de oviposição também não afetou as razões sexuais de *T. atopovirilia* (Kruskal-Wallis, $p=0,07$) e *T.*

remus (Kruskal-Wallis, $p=0,33$) emergidos após terem competido com *T. pretiosum* (Tabela 5.4).

5.4 Discussão

O desenvolvimento de *Trichogramma* spp. é bastante homogêneo (METCALFE; BRENIERE, 1969). Em *T. cacoeciae* Marchal, as larvas eclodem em 28 horas e apresentam apenas um ínstar, sendo o conteúdo do ovo hospedeiro ingerido totalmente em 36-37 horas (VOLKOFF et al., 1995). Em ovos de *Heliothis virescens* (Fabr., 1781) (Lepidoptera: Noctuidae), as larvas de *Trichogramma pretiosum* Riley 1879 eclodem em 26 horas e se desenvolvem rapidamente, consumindo o conteúdo de um ovo hospedeiro em apenas 30 horas (STRAND, 1986). Ovos de *Telenomus remus* Nixon 1937 possuem um período de incubação inferior ao de *Trichogramma*, eclodindo num período de 12 a 18 horas após a oviposição (DE PICHON, 1987). Em contrapartida, as larvas de *T. remus* são mais lentas na ingestão do hospedeiro, necessitando de 96 horas para consumir o conteúdo total de um ovo de *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (GERLING, 1972). Essa diferença na velocidade de consumo alimentar existente entre *Trichogramma* spp. e *T. remus* parece explicar a vantagem competitiva de *T. pretiosum* e *T. atopovirilia* Oatman & Platner 1983 sobre *T. remus* quando os tricogramatídeos ovipositam antes do escelionídeo. Além disso, a velocidade de consumo pode ter favorecido os tricogramatídeos mesmo quando estes ovipositaram depois de *T. remus*, já que em muitas ocasiões *T. pretiosum* e *T. atopovirilia* competiram de igual para igual com o escelionídeo, observando-se, inclusive, possibilidade de dominância de *T. atopovirilia* sobre *T. remus*.

T. pretiosum e *T. remus* pertencem a diferentes famílias taxonômicas, o que atesta uma determinada distância filogenética entre ambas as espécies (STRAND, 1986), distância esta bastante superior, por exemplo, à existente entre *T. pretiosum* e *T. atopovirilia*, que além de pertencerem à mesma família, pertencem também ao mesmo gênero. Estas diferenças podem ser constatadas, inclusive, na história de vida destas espécies (vide item 3.3). Contudo, apesar da relativa distância filogenética e diferentes histórias de vida, as duas espécies respondem de forma semelhante à competição interespecífica interna, já que ambas, quando foram as primeiras espécies a ovipositar,

sempre ou dominaram ou competiram de forma equilibrada com a segunda e, portanto, sempre que foram a segunda espécie a parasitar, suas proles ou foram dominadas ou competiram igualmente com as proles da primeira espécie. Resultados distintos foram observados nas combinações envolvendo *T. atopovirilia*. Apesar de pertencerem ao mesmo gênero, *T. pretiosum* e *T. atopovirilia* apresentaram diferentes capacidades competitivas, já que independentemente do intervalo entre as oviposições, sempre que *T. atopovirilia* oviposita antes de *T. pretiosum*, a competição larval foi dominada por *T. atopovirilia*; ao passo que, ao inverter-se a ordem de oviposição, *T. pretiosum* pode vencer, perder ou empatar na competição com *T. atopovirilia*, a depender do intervalo entre as oviposições. Desta forma, pode-se dizer que *T. atopovirilia* é, de um modo geral, superior a *T. pretiosum* na competição interespecífica interna. Um padrão bastante similar foi encontrado na competição interna entre *T. remus* e *T. atopovirilia*, pois este último sempre dominou a competição quando ovipositou primeiro, enquanto *T. remus*, ao ser a primeira espécie a ovipositar, ou venceu, ou foi vencido ou empatou na competição com *T. atopovirilia*, dependendo do intervalo entre as oviposições das duas espécies. Estes dados colocam as larvas de *T. atopovirilia* como as de maior capacidade competitiva dentre as larvas das três espécies de parasitoide estudadas.

No presente trabalho, *T. remus* foi incapaz de reconhecer ovos já parasitados por *T. pretiosum* e emergiu de ovos multiparasitados em todos os intervalos testados, embora tenha sido incapaz de dominar a competição em qualquer um deles. De acordo com Force (1974), a discriminação interespecífica de ovos é menos comum do que a intraespecífica. Assim, a possibilidade de multiparasitismo aumenta e pode influenciar a estrutura das guildas de parasitoides. O reconhecimento de hospedeiros já parasitados utilizando o sistema *Telenomus* - *Trichogramma* foi estudado por Strand (1986), o qual constatou que *T. heliothidis* é capaz de reconhecer ovos parasitados por *T. pretiosum*, a partir de 12h após a oviposição da primeira espécie, evitando multiparasitá-los, ao passo que *T. pretiosum* não apresentou a mesma capacidade. Além disso, *T. pretiosum* dominou a competição quando ovipositou com seis a doze horas de antecedência à *T. heliothidis* que, por sua vez, conseguiu dominar quando ovipositou desde 72h antes a até 3h depois de *T. pretiosum*.

Ficou claro que a ordem de oviposição, assim como o intervalo entre a primeira e a segunda oviposições, tiveram importante papel no resultado da competição interespecífica das três espécies de parasitoides estudadas. De Moraes et al. (1999) e De Moraes e Mescher (2005), ao estudarem a competição entre parasitoides larvais de *H. virescens*, também observaram que a dominância dependeu tanto da ordem quanto do intervalo de oviposição. Contudo, a biologia das espécies em competição pode anular a importância destes fatores. Yamamoto et al. (2007), por exemplo, ao estudarem os efeitos da competição de *T. pretiosum* com *Copidosoma floridanum* (Ashmead 1900) (Hymenoptera: Encyrtidae), um parasitoide ovo-larval poliembriônico, verificaram que, a despeito da ordem de parasitismo, *T. pretiosum* foi a espécie a emergir em 100% dos ovos de *Trichoplusia ni* (Hübner, 1802) (Lepidoptera: Noctuidae) multiparasitados por estas duas espécies. Os autores atribuíram o sucesso de *T. pretiosum* à sua velocidade de desenvolvimento, bastante superior à de *C. floridanum*.

Apesar de ser possível a ocorrência de duas ou mais espécies de *Trichogramma* compartilhando um mesmo hospedeiro em condições de campo (BEZERRA; PARRA, 2005; ZUCCHI; MONTEIRO, 1997; BIN; JOHNSON, 1982), dados a respeito competição interna entre espécies deste grupo são escassos. Van Den Bosh, Messenger e Gutierrez (1973) citam o multiparasitismo por espécies de *Trichogramma* como um dos raros casos em que duas espécies podem emergir a partir de um único hospedeiro, embora os autores não tenham apresentado dados de experimentação ou de literatura que sustentem esta afirmação. Talvez a homogeneidade nas histórias de vida de espécies de *Trichogramma*, o que favoreceria um equilíbrio na competição interespecífica, tenha desencorajado a realização deste tipo de pesquisa envolvendo espécies deste gênero, já que os resultados seriam previsíveis. Contudo, no presente trabalho foram trazidas, possivelmente, as primeiras evidências de que a competição entre duas espécies de *Trichogramma* pode não ser equilibrada e o seu resultado depende da ordem de parasitismo, assim como do intervalo entre as oviposições da primeira e segunda espécies. Ademais, a despeito de já ser conhecida a possibilidade de emergência de duas espécies de *Trichogramma* a partir de um único ovo hospedeiro multiparasitado, provavelmente este trabalho traz a primeira abordagem quantitativa deste aspecto, apresentado ao mesmo tempo até quando ele pode ocorrer e a

frequência com que ele ocorre no sistema *T. pretiosum* - *T. atopovirilia* - *S. frugiperda* (J.E. Smith, 1797).

Em competições interespecíficas, a percentagem de mortalidade de hospedeiros pode variar tanto com o intervalo como com a ordem de oviposição (SUJII et al., 2002; CUSUMANO et al., 2010). No presente trabalho, isto só foi verdadeiro para *T. atopovirilia*. Para *T. pretiosum*, a mortalidade de hospedeiro foi indiferente a estes fatores e, para *T. remus*, o fator determinante da mortalidade foi o tipo de competição. Assim, a competição intra-específica produziu maior mortalidade de hospedeiros do que as competições interespecíficas. É sabido que larvas de *T. remus* apresentam mandíbulas e espinhos caudais, as quais podem ser aplicadas para matar larvas competidoras no interior do ovo hospedeiro (CAVE, 2000). Larvas de *Trichogramma* também possuem mandíbulas (METCALFE; BRENIERE, 1969), entretanto, aparentemente, sem função de ataque/defesa. Assim, uma explicação plausível é a de que a elevada taxa de mortalidade em hospedeiros superparasitados seja um reflexo dos ataques mútuos de larvas em desenvolvimento, pela disputa de alimento, aumentando a probabilidade de ferimentos fatais e, conseqüentemente, a elevação da mortalidade de hospedeiros.

O potencial de utilização conjunta de espécies de *Telenomus* e *Trichogramma* visando ao controle de pragas já vem sendo especulado há décadas (BIN; JOHNSON, 1982). Todavia, poucos estudos envolvendo esta interação têm sido realizados. Da mesma forma, a interação competitiva de espécies de *Trichogramma* ainda precisa ser melhor explorada. Os resultados apresentados neste trabalho oferecem algumas ideias sobre os possíveis resultados de liberações de combinações de espécies de parasitoides sobre populações de pragas, ao mesmo tempo em que se constituem em subsídios para o entendimento do impacto de espécies de parasitoides de ovos liberadas em campo sobre as populações das já residentes em um determinado local. Obviamente, é pouco prudente deduzir que resultados coletados em laboratório refletem a realidade de campo. Assim, há necessidade de que os resultados aqui apresentados sejam validados em condições de semi-campo e campo. Estas abordagens são importantes para o entendimento da ecologia de parasitoides de ovos

e, em termos mais aplicados, para a escolha da espécie ou combinação de espécies a ser liberada visando ao controle de pragas.

5.5 Conclusão

A competição intra-específica interna afeta a sobrevivência de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner 1983, mas não de *T. pretiosum* Riley 1879 nem de *Telenomus remus* Nixon 1937. As competições interespecíficas internas afetam a sobrevivência destas três espécies, sendo a ordem de parasitismo e o intervalo entre as oviposições determinantes para o resultado da competição. Dentre as três espécies estudadas, *T. atopovirilia* é a que apresenta maior probabilidade de vencer neste tipo de competição.

Referências

- BESERRA, E.B.; DIAS, C.T.S.; PARRA, J.R.P. Distribution and natural parasitism of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs at different phenological stages of corn. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 85, p. 588-593, 2002.
- BIN, F.; JOHNSON, N.F. Potential of Telenominae in biocontrol with egg parasitoids (Hym., Scelionidae). **Les Colloques de l'INRA**, Antibes, v. 9, p. 275-289, 1982.
- BOGRÁN, C.E.; HEINZ, K.M.; CIOMPERLIK, M. Interspecific competition among insect parasitoids: field experiments with whiteflies as hosts in cotton. **Ecology**, New York, v. 83, p. 653-668, 2002.
- CAVE, R.D. Biology, ecology and use in pest management of *Telenomus remus*. **Biocontrol News and Information**, Wallingford, v. 21, p. 21-26, 2000.
- CUSUMANO, A.; PERI, E.; VINSON, S.B.; COLAZZA, S. Intraguild interactions between two egg parasitoids exploring host patches. **Biocontrol**, Dordrecht, v. 56, p. 173-184, 2010.
- DE MORAES, C.M.; MESCHER, M.C. Intrinsic competition between larval parasitoids with different degrees of host specificity. **Ecological Entomology**, Malden, v. 30, p. 1-7, 2005.
- DE MORAES, C.M.; CORTESERE, A.M.; STAPEL, J.O.; LEWIS, W.J. Intrinsic and extrinsic competitive interactions between two larval parasitoids of *Heliothis virescens*. **Ecological Entomology**, Malden, v. 24, p. 402-410, 1999.

DENOTH, M.; FRID, L.; MYERS, J.H. Multiple agents in biological control: improving the odds? **Biological Control**, San Diego, v. 24, p. 20–30, 2002.

DE PICHO, H.G. Biología de *Telenomus remus* Nixon (Hym.: Scelionidae). **Revista Peruana de Entomología**, Lima, v. 30, p. 29-32, 1987.

FERGUSON, K.I.; STILING, P. Non-additive effects of multiple natural enemies on aphid populations. **Oecologia**, New York, v. 108, p. 375-379, 1996.

FORCE, D.C. Ecology of insect host-parasitoid communities. **Science**, Washington, v. 184, p. 624-632, 1974.

GERLING, D. The developmental biology of *Telenomus remus* Nixon (Hym., Scelionidae). **Bulletin of Entomological Research**, New Delhi, v. 61, p. 385-388, 1972.

GODFRAY, H.C.J. **Parasitoids: behavior and evolutionary ecology**. Princeton: Princeton University Press, Princeton, 1994. 473 p.

MANDOUR, N.S.; MAHMOUD, M.F.; OSMAN, M.A.; QIU, B. Efficiency, intrinsic competition and interspecific host discrimination of *Copidosoma desantisi* and *Trichogramma evanescens*, two parasitoids of *Phthorimaea operculella*. **Biocontrol Science and Technology**, New York, v. 18, p. 903-912, 2008.

METCALFE, J.R.; BRENIERE, J. Egg parasites (*Trichogramma* spp.) for control of sugarcane moth borers. In: WILLIAM, J.R.; METCALFE, J.R.; MUNGOMERY, R.W.; MATHES, R. (Ed.). **Pests of sugarcane**. Amsterdam: Elsevier, 1969. p. 81–116.

PETCHARAT, J.; LING, Z.; WEIQIU, Z.; ZAIFU, X.; QUISONG, W. Larval parasitoids of agromyzid leafminer genus *Liriomyza* in Southern Thailand: species and their host plants. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, Bangkok, v. 24, p. 467-472, 2002.

STRAND, M.R. Physiological interactions of parasitoids and hosts. In: WAAGE, J.; GREATHEAD, D. (Ed.). **Insect parasitoids**. London: Academic Press, 1986. p. 109-118.

SUJII, E.R.; COSTA, M.L.M.; PIRES, C.S.S.; COLAZZA, S.; BORGES, M. Inter and intra-guild interactions in egg parasitoid species of the soybean stink bug complex. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, p. 1541-1549, 2002.

VAN DEN BOSH, R.; MESSENGER, P.S.; GUTIERREZ, A.P. **An introduction to biological control**. New York: Plenum, 1973. 247 p.

VOLKOFF, A.N.; DAUMAL, J.; BARRY, P.; FRANÇOIS, M.C.; HAWLITZKY, N.; ROSSI, M.M. Development of *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hymenoptera: Trichogrammatidae): time table and evidence for a single larval instar. **International Journal of Insect Morphology and Embryology**, Oxford, v. 24, p. 459–466, 1995.

YAMAMOTO, D.; HENDERSON, R.; CORLEY, R.; IWABUCHI, K. Intrinsic, inter-specific competition between egg-, egg-larval, and larval parasitoids of plusiine loopers.

Ecological Entomology, Malden, v. 32, p. 221-228, 2007.

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. p. 121-150.