UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP - DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA

“Características biológicas de *Telenomus remus* Nixon em ovos de *Corcyra cephalonica* (Stainton) e *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith): bases para o desenvolvimento de programas de controle biológico aplicado para as culturas da soja e milho”

Aline Farhat Pomari

Tese apresentada à Faculdade de
Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP,
como parte das exigências para a obtenção do título de
Doutor em Ciências, Área: ENTOMOLOGIA

RIBEIRÃO PRETO - SP

2013

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP - DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA

“Características biológicas de *Telenomus remus* Nixon em ovos de *Corcyra cephalonica* (Stainton) e *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith): bases para o desenvolvimento de programas de controle biológico aplicado para as culturas da soja e milho”

Aline Farhat Pomari

Orientador: Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli

Co-orientador: Dr. Adeney de Freitas Bueno

Tese apresentada à Faculdade de
Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP,
como parte das exigências para a obtenção do título de
Doutor em Ciências, Área: ENTOMOLOGIA

RIBEIRÃO PRETO - SP

2013

Na incessante busca por conhecimentos que contribuam para a melhoria de nossa qualidade de vida, decidi trabalhar com controle biológico de insetos; uma pequena parte que auxilia o todo a fazer a diferença. Assim, dedico este trabalho a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuem para que possamos ter uma agricultura sustentável, produtiva e ambientalmente equilibrada.

“Colocamos adiante o medo para não deixar passar o nosso futuro.”

(Rudolf Steiner)

AGRADECIMENTOS

A esfera espiritual, pelo carinho em me auxiliar nesta caminhada.

Aos meus pais e meu irmão, Carlos Alberto, Nabiha e Carlos Eduardo, pelo amor, companheirismo, confiança e, por jamais deixarem de sonhar comigo.

Ao amor da minha vida, meu marido, Augusto. É difícil expressar o quanto importante você foi nesta jornada. Agradeço pelo amor incondicional, pela confiança absoluta e pelo companheirismo em todos os instantes.

Ao Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli, pela acolhida, pelo respeito e pelos conhecimentos transmitidos ao longo desta jornada.

Ao Dr. Adeney de Freitas Bueno, por esta e tantas outras oportunidades, pela confiança em meu trabalho, pela dedicação e principalmente, por me incentivar a buscar mais respostas.

Aos queridos professores: Dra. Laila Herta Mihsfeldt e Dr. Ayres de Oliveira Menezes Junior (pais científicos), agradeço por me engrandecerem no início de minha jornada e pela companhia constante.

A Dra. Alessandra Marieli Vacari, pelos ensinamentos, auxílio, amizade e pelo exemplo profissional, devido ao carinho e seriedade com que exerce seu trabalho.

Aos companheiros do Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (Unesp/FCAVJ), pela acolhida, carinho e amizade valiosos e jamais esquecidos.

Ao Dr. Orcial Ceolin Bortolotto, pela amizade e auxílio na condução deste trabalho.

Aos funcionários e estagiários do Laboratório de Parasitoides (Embrapa Soja), que não mediram esforços para auxiliar no desenvolvimento desta pesquisa. Em especial, aos estagiários Ana Paula e Alisson que foram incansáveis nas avaliações que compuseram muito dos experimentos.

Aos professores e funcionários do programa de pós-graduação em Entomologia da USP/FFCLRP, pelo auxílio e conhecimento transmitido.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - Fapesp, Processo número 2011/50338-2, pela concessão da bolsa de estudo.

Enfim, a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	2
CAPÍTULO 1: Introdução geral e criação de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), <i>Corcyra cephalonica</i> (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) e <i>Telenomus remus</i> Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae)	3
1.1. INTRODUÇÃO GERAL.....	4
1.2. CRIAÇÃO E LOCAL DE COLETA DAS ESPÉCIES UTILIZADAS	8
1.2.1. Local de coleta das espécies utilizadas.....	8
1.2.2. Criação de <i>Spodoptera frugiperda</i>	8
1.2.3. Criação de <i>Corcyra cephalonica</i>	10
1.2.4. Criação de <i>Telenomus remus</i>	11
1.3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	12
CAPÍTULO 2: Efeito do período de exposição, inviabilização, fixação e geração no parasitismo de <i>Telenomus remus</i> Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) em ovos de <i>Corcyra cephalonica</i> (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae).	15
2.1. INTRODUÇÃO	16
2.2. MATERIAL E MÉTODOS	17
2.2.1. Influência da inviabilização e tempo de exposição ao parasitismo nas características biológicas de <i>Telenomus remus</i> em ovos de <i>Corcyra cephalonica</i> e <i>Spodoptera frugiperda</i>	18
2.2.2. Características biológicas de <i>Telenomus remus</i> provenientes de ovos de <i>Corcyra cephalonica</i> (F1), expostos à diferentes períodos de parasitismo.	19
2.2.3. Influência de cola branca e goma arábica como métodos de fixação dos ovos de <i>Corcyra cephalonica</i> nas características biológicas de <i>Telenomus remus</i>	20

2.2.4. Características biológicas de <i>Telenomus remus</i> em ovos de <i>Corcyra cephalonica</i> utilizando maior densidade de fêmeas do parasitoide e com diferentes períodos de parasitismo.	21
2.3. Resultados.....	22
2.3.1. Influência da inviabilização do hospedeiro e tempo de exposição ao parasitismo nas características biológicas de <i>Telenomus remus</i> em ovos de <i>Corcyra cephalonica</i> e <i>Spodoptera frugiperda</i>	22
2.3.2. Características biológicas de <i>Telenomus remus</i> provenientes de ovos de <i>Corcyra cephalonica</i> (F1), expostos à diferentes períodos de parasitismo.	23
2.3.3. Influência de cola branca e goma arábica como métodos de fixação dos ovos de <i>Corcyra cephalonica</i> nas características biológicas de <i>Telenomus remus</i>	23
2.3.4. Características biológicas de <i>Telenomus remus</i> em ovos de <i>Corcyra cephalonica</i> utilizando maior densidade de fêmeas do parasitoide e com diferentes períodos de parasitismo.	24
2.4. DISCUSSÃO.	25
2.5. CONCLUSÃO	28
2.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
CAPÍTULO 3: Características biológicas de <i>Telenomus remus</i> Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) em ovos de <i>Corcyra cephalonica</i> (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) por várias gerações	30
3.1. INTRODUÇÃO	31
3.2. MATERIAL E MÉTODOS	32
3.2.1. Características biológicas de <i>Telenomus remus</i> em ovos de <i>Corcyra cephalonica</i> por 19 gerações	32
3.2.2. Características biológicas de <i>Telenomus remus</i> provenientes de ovos de <i>Corcyra cephalonica</i> por diferentes gerações em ovos de <i>Spodoptera frugiperda</i>	33

3.2.3. Capacidade de parasitismo de <i>Telenomus remus</i> em ovos de <i>Corcyra cephalonica</i> por cinco gerações comparativamente a ovos de <i>Spodoptera frugiperda</i>	34
3.3. RESULTADOS	36
3.3.1. Características biológicas de <i>Telenomus remus</i> em ovos de <i>Corcyra cephalonica</i> por 19 gerações	36
3.3.2. Características biológicas de <i>Telenomus remus</i> provenientes de ovos de <i>Corcyra cephalonica</i> por diferentes gerações em ovos de <i>Spodoptera frugiperda</i>	37
3.3.3. Capacidade de parasitismo de <i>Telenomus remus</i> em ovos de <i>Corcyra cephalonica</i> por cinco gerações comparativamente a ovos de <i>Spodoptera frugiperda</i>	38
3.4. DISCUSSÃO	40
3.5. CONCLUSÃO	46
3.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
CAPÍTULO 4: Importância da umidade relativa para as características biológicas de <i>Telenomus remus</i> Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) em ovos de <i>Corcyra cephalonica</i> (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) e <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae).....	49
4.1. INTRODUÇÃO	50
4.2.MATERIAL E MÉTODOS	51
4.2.1.Características biológicas de <i>Telenomus remus</i> em ovos de <i>Corcyra cephalonica</i> e <i>Spodoptera frugiperda</i> em diferentes umidades relativas	51
4.2.2. Capacidade de parasitismo de <i>Telenomus remus</i> em ovos de <i>Corcyra cephalonica</i> e <i>Spodoptera frugiperda</i> expostos a diferentes umidades relativas	52
4.3. RESULTADOS	52
4.3.1. Características biológicas de <i>Telenomus remus</i> em ovos de <i>Corcyra cephalonica</i> e <i>Spodoptera frugiperda</i> em diferentes umidades relativas	52

4.3.2. Capacidade de parasitismo de <i>Telenomus remus</i> em ovos de <i>Corcyra cephalonica</i> expostos a diferentes umidades relativas	55
4.4. DISCUSSÃO	59
4.5. CONCLUSÃO.....	63
4.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
CAPÍTULO 5: Controle de qualidade na produção de <i>Telenomus remus</i> Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) multiplicado em ovos do hospedeiro alternativo <i>Corcyra cephalonica</i> (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae).....	67
5.1. INTRODUÇÃO	68
5.2. MATERIAL E MÉTODOS	69
5.2.1. Morfometria de <i>Telenomus remus</i>	69
5.2.2. Teste de voo de <i>Telenomus remus</i>	70
5.3. RESULTADOS.....	73
5.3.1. Morfometria de <i>Telenomus remus</i>	73
5.3.2. Teste de voo de <i>Telenomus remus</i>	74
5.4. DISCUSSÃO	75
5.5. CONCLUSÃO	78
5.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78
CAPÍTULO 6: Dispersão de <i>Telenomus remus</i> Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) nas culturas de milho e soja	80
6.1. INTRODUÇÃO	81
6.2. MATERIAL E MÉTODOS	81
6.2.1. Área experimental e procedimentos	81

6.2.2. Safras e culturas em que foram realizados os experimentos	84
6.2.3. Arranjo experimental e avaliações	85
6.3. RESULTADOS.....	89
6.3.1. Capacidade de dispersão de <i>Telenomus remus</i> em milho.....	89
6.3.2. Capacidade de dispersão de <i>Telenomus remus</i> em soja	92
6.3.3. Capacidade de dispersão de <i>Telenomus remus</i> provenientes de ovos de <i>Corcyra cephalonica</i> e <i>Spodoptera frugiperda</i> em milho	94
6.3.4. Capacidade de dispersão de <i>Telenomus remus</i> provenientes de ovos de <i>Corcyra cephalonica</i> e <i>Spodoptera frugiperda</i> na soja	98
6.4. CONCLUSÃO	106
6.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	106
CONSIDERAÇÕES FINAIS	109

RESUMO

Esta tese objetivou realizar pesquisas essenciais como a utilização de hospedeiro alternativo e o comportamento de dispersão de *Telenomus remus*, para nortear a utilização desta espécie em programas de controle biológico aplicado, nas culturas de milho e soja. Os experimentos iniciais envolveram metodologias que determinaram que para a condução dos experimentos é necessário utilizar ovos inviabilizados, 24 h de exposição ao parasitismo e 20 fêmeas para 100 ovos do hospedeiro. Os estudos sobre a biologia e parasitismo de *T. remus* em ovos *Corcyra cephalonica*, por diferentes gerações, apresentaram índices de parasitismo crescentes até a geração F7, a partir desta, o número de ovos parasitados foi semelhante (± 62 ovos) e o potencial de parasitismo ao longo da vida foi semelhante àquele verificado para o hospedeiro de criação na geração F19. A influência da umidade relativa foi avaliada e permitiu determinar que deve ser igual ou superior a 80% para que *T. remus* apresente bom desenvolvimentos em ovos de *C. cephalonica*. A qualidade dos parasitoides criados em ovos do hospedeiro alternativo foi avaliada mediante análise morfométrica e atividade de vôo e os resultados obtidos demonstraram que, embora *T. remus* criado em ovos de *C. cephalonica* apresente tamanho inferior àqueles observados nos parasitoides criados em ovos de *S. frugiperda*, este fator não influenciou a sua atividade de vôo. Em experimentos de campo foi possível avaliar a capacidade e o padrão de dispersão de *T. remus* nas culturas de milho e soja onde foi determinado que 40 pontos/ha é o número necessário para controle efetivo de ovos de *S. frugiperda*, mas a direção eólica atua diretamente no padrão de dispersão e deve ser considerada nas liberações. Assim, com estes resultados é possível concluir que *T. remus* age efetivamente em campo, no controle de *S. frugiperda*, e que *C. cephalonica* pode ser utilizada como hospedeiro alternativo em criação massais.

ABSTRACT

This thesis aimed to conduct essential research and the use of alternative host and dispersion behavior of *Telenomus remus*, to guide the use of this species in biological control programs, in corn and soybean. Initial experiments, involving methodologies that for conducting experiments determined is necessary to use unfeasible eggs, 24 h exposure to parasitism and 20 females for 100 host eggs. Studies on the biology and parasitism of *T. remus* to *Corcyra cephalonica* eggs by different generations, showed rates of parasitism augmentative to the F7 generation, from this, the number of parasitized eggs was similar (± 62 eggs) and the potential of parasitism throughout life was analogous to that observed for the host creation in F19 generation. The influence of relative humidity was reviewed and has determined that this must be equal to or greater than 80% for *T. remus* present good developments in eggs of *C. cephalonica*. The quality of the parasitoids reared on eggs of the factitious host was assessed by morphometric analysis and flight activity and the results showed that although *T. remus* reared in eggs of *C. cephalonica* present smaller size to those observed in parasitoids reared on eggs of *S. frugiperda*, this factor did not affect their flight activity. In field experiments it was possible to assess the ability and the pattern of spread of *T. remus* in corn and soybean where it was determined that 40 points/ha is required for effective control of eggs of *S. frugiperda*, but wind direction acts directly on the dispersion pattern and should be considered in releases. So with these results we conclude that *T. remus* acts effectively on the field, control of *S. frugiperda* and *C. cephalonica* may be used as factitious host for mass rearing.

CAPÍTULO 1:

Introdução geral e criação de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Lepdopitera: Noctuidae),
Corcyra cephalonica (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) e *Telenomus remus* Nixon
(Hymenoptera: Platygasteridae)

1.1. INTRODUÇÃO GERAL

A medida de controle de insetos predominantemente utilizada pela maioria dos produtores brasileiros de soja e milho é a aplicação de inseticidas (Bueno et al., 2011). Contudo, o uso abusivo e exclusivo desses produtos tem acarretado sérios problemas para o controle de pragas, como o aumento no custo de produção, eliminação de agentes naturais de controle e seleção de linhagens de pragas resistentes aos agrotóxicos utilizados e, ainda, a contaminação do homem e do meio ambiente (Diez-Rodriguez & Omoto, 2001). Aliado a isso, atualmente há um aumento das pressões sociais e políticas que exigem cada vez mais melhoria na qualidade de vida, levando diversos agricultores a se interessarem pelas vantagens que novas táticas de controle de pragas apresentam em relação ao controle químico.

A procura por táticas de controle mais racionais tem norteado os agricultores ao manejo integrado de pragas (MIP), onde se insere o controle biológico. Dentre as diferentes estratégias desse controle, há o controle biológico aplicado ou aumentativo, que visa supressão de populações de pragas por meio de liberações inundativas de inimigos naturais. Essa é uma tática de controle com boa aceitação pelos agricultores por atuar rapidamente, semelhante aos agrotóxicos convencionais (Parra et al., 2002). Entretanto, ao contrário de muitos inseticidas, a utilização de produtos biológicos para o controle de pragas é compatível com as demais táticas de manejo, preservando os inimigos naturais já existentes nas áreas agrícolas, enquadrando-se perfeitamente na concepção do MIP, onde a meta não é necessariamente a eliminação total da praga, mas sim a manutenção da população abaixo do nível de dano econômico (NDE), sem reduzir a produtividade, aliado à preservação ambiental (Parra et al., 2002).

Além disso, é importante considerar que a dinâmica de ocorrência de insetos-praga nas lavouras tem sido alterada. Como por exemplo, a mudança na especificidade de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), que era conhecida como

lagarta-do-cartucho e considerada a mais expressiva praga da cultura do milho, tem sido importante também em outras culturas como soja e algodão. Similarmente, outras espécies do gênero, como *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae), são agora consideradas pragas-chave em alguns locais de cultivo de soja no Brasil, como nos estados de Goiás e Mato Grosso (Bueno et al., 2007).

Em geral, o gênero *Spodoptera* tem grande importância econômica por englobar várias espécies que causam danos a diversas culturas de interesse econômico, como o milho e a soja, apresentando alto grau de polifagia (Bueno et al., 2011). Na cultura do milho, *S. frugiperda* causa entre 15% e 34% de perda no rendimento agrícola e US\$ 400 milhões em prejuízos econômicos anuais (Cruz et al., 1999). Para a cultura da soja há escassez de estudos sobre perdas na produtividade, porém, as espécies de maior ocorrência são *S. cosmioides* e *S. eridania* que causam danos principalmente a partir do início da fase reprodutiva da cultura quando, além de se alimentarem das folhas, atacam também as vagens (Gazzoni & Yorinori, 1995). É importante destacar que *S. cosmioides* consome o dobro da área foliar que as outras espécies de lagartas que atacam essa cultura (Bueno et al., 2011), o que comprova potencial de dano dessa praga na soja.

Entre as opções possíveis de controle biológico para o manejo do complexo de espécies do gênero *Spodoptera*, o parasitoide de ovos *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) tem apresentado grande potencial de controle (Cave, 2000; Bueno et al., 2008). Estudos relacionados às características biológicas, exigências térmicas e capacidade de parasitismo de *T. remus* em ovos de *Spodoptera* spp. têm demonstrado que o parasitoide age efetivamente sobre ovos depositados em camadas sobrepostas, atingindo inclusive aquelas mais internas (Bueno et al., 2008; Pomari et al., 2012), o que não ocorre com outros parasitoides de ovos como *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Devido à grande capacidade de parasitismo em ovos de lepidópteros-

praga do gênero *Spodoptera*, *T. remus* tem sido utilizado em larga escala em programas de MIP na Venezuela, por meio de liberações inundativas em áreas de milho, obtendo-se índices de parasitismo de até 90% em ovos de *S. frugiperda* (Ferrer, 2001). Entretanto, existem poucos estudos com as demais espécies-praga desse gênero e, mesmo com relação a *S. frugiperda*, eles estão concentrados na cultura do milho e poucos avaliaram o potencial desse parasitoide na cultura da soja.

É importante salientar que para que um inimigo natural seja utilizado em programas de controle biológico devem-se conhecer, primeiramente, diferentes aspectos como o desenvolvimento e capacidade de parasitismo em diferentes hospedeiros. Um dos fatores limitantes à expansão do uso de agentes de controle biológico nas culturas do milho e da soja diz respeito às técnicas de criação dos inimigos naturais (Cruz, 2000). Aliado a isso, outro fator limitante é relativo às técnicas de criação, sendo necessário conhecer o hospedeiro e os métodos mais adequados e viáveis para a criação.

Nesse sentido, é importante ressaltar que os inimigos naturais podem ser produzidos em hospedeiros alternativos ou de substituição. Há casos em que o parasitoide é criado em hospedeiros que normalmente não parasita em ambiente natural, mas que é qualitativamente apropriado para promover bom desenvolvimento do inimigo natural (Parra, 1997). Levando-se em consideração a espécie deste estudo, o desenvolvimento de *T. remus* em ovos de um hospedeiro alternativo, como *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae), foi relatado por Kumar et al. (1986). Porém, o estudo não apresenta uma metodologia viável para a utilização desta espécie como hospedeiro alternativo, sendo necessário conhecer o desenvolvimento e as necessidades biológicas do parasitoide para ser criado em ovos de *C. cephalonica*. Além disso, é importante conhecer a qualidade dos parasitoides nesse hospedeiro, avaliando-se a eficiência em laboratório e campo, visando garantir o padrão de qualidade dos inimigos naturais produzidos massalmente.

Nesse contexto, Prezotti (2001) verificou que em programas de controle de qualidade

de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), o monitoramento das populações de laboratório pode ser simplificado, deixando-se de analisar cerca de sete variáveis biológicas, conforme recomendação da Organização Internacional de Controle Biológico (IOBC/ Global Working Group: Quality Control of Mass Reared Arthropods) e direcionando as avaliações apenas para as variáveis de longevidade, parasitismo e atividade de voo. A capacidade de voar e caminhar são características importantes para o desempenho do inimigo natural em condições de campo, pois estão relacionadas com o forrageamento e sua capacidade de dispersão (Gardner & Lenteren, 1986), e estes atributos podem se modificarem ao longo do processo de multiplicação no laboratório, devendo ser, portanto, monitorados.

Além disso, outro ponto a ser estudado para a implantação de programas de controle biológico aplicado é a capacidade e o padrão de dispersão de um inimigo natural, assim como os fatores que afetam esse processo, visando nortear a elaboração de estratégias eficientes de liberação do inimigo natural em campo. A maior ou menor eficiência de controle por um parasitoide, em liberações inundativas, está diretamente ligada a capacidade de dispersão, pois assim será possível definir o número de pontos de liberação necessário por unidade de área para garantir distribuição homogênea do parasitoide na área alvo. Essa capacidade varia em função das características da espécie e/ou linhagens do parasitoide e da cultura na qual serão realizadas as liberações (Stinner et al., 1974; Lopes, 1988 e Sá et al., 1993). Ainda, as características intrínsecas de cada cultura, em função da condição microclimática criada, podem afetar a capacidade de "busca" do parasitoide, pela variação, principalmente, da temperatura em cada condição (Biever, 1972).

Estudos foram relacionados à criação massal e utilização em programas de controle biológico de *T. remus*, e esta pesquisa objetivou determinar técnicas de criação viáveis para utilização de *T. remus* criado em ovos do hospedeiro *C. cephalonica*. Para tanto, foram realizados estudos para avaliar as características biológicas, parasitismo e umidade relativa

adequada para *T. remus* neste hospedeiro por diferentes gerações. Objetivou-se avaliar também a qualidade dos parasitoides provenientes de ovos de *C. cephalonica* por meio de análises do tamanho dos insetos e da atividade de voo. E, nos ensaios em campo, o objetivo foi determinar o número de pontos necessários por unidade de área para que *T. remus* possa atingir eficiente controle de ovos de *S. frugiperda*.

1.2. CRIAÇÃO E LOCAL DE COLETA DAS ESPÉCIES UTILIZADAS

1.2.1. Local de coleta das espécies utilizadas

As espécies utilizadas em todos os experimentos foram provenientes de diversas localidades e, em laboratório, estavam sendo criadas por várias gerações. *S. frugiperda* foi coletada em milho, na cidade de Rio Verde/GO, e os ovos utilizados estavam entre a 54^a e 78^a gerações; *C. cephalonica* foi obtida da criação de laboratório da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul que estava entre a 24^a e 36^a gerações e *T. remus* foi obtido da criação da Embrapa Arroz e Feijão e estava entre a 180^a e 252^a gerações.

1.2.2. Criação de *Spodoptera frugiperda*

A metodologia de criação foi adaptada de Oliveira et al. (2006). Adultos de *S. frugiperda* foram mantidos em gaiolas de tubos de PVC (10 cm de diâmetro x 20 cm de altura) na proporção de cinco casais por gaiola. Essas gaiolas foram colocadas individualmente sobre placas de Petri de vidro (13cm de diâmetro), forradas com papel filtro. As gaiolas foram cobertas na parte superior com tecido tipo voile preso por elástico e forradas com papel sulfite na lateral interna para permitir a oviposição (Figura 1A). A alimentação dos adultos foi realizada com solução aquosa de mel a 10%, colocada em recipiente de vidro com capacidade para 25 mL com orifício na parte central. Através desse orifício foi colocado um rolete de algodão que, por capilaridade, permitiu a alimentação dos insetos. Para evitar a fermentação e/ou contaminação do mel com microorganismos, o

alimento foi substituído diariamente. As folhas de papel sulfite contendo posturas foram retiradas todos os dias, individualizadas por meio do recorte do papel e mantidas em copos plásticos de 100 mL contendo 5g de dieta artificial (Tabela 1). Esses copos foram vedados com tampa plástica e mantidos em sala climatizada ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR: $70\pm 10\%$ e fotofase de 12h) até as lagartas atingirem o 3º ínstar.

Em função do canibalismo acentuado presente em indivíduos de *S. frugiperda*, principalmente a partir do 3º ínstar, as lagartas neste estágio foram transferidas individualmente para tubos de vidro de fundo chato (2,5 cm de diâmetro x 8 cm de altura) com $\frac{1}{4}$ da altura preenchida com dieta artificial, sendo vedados com algodão hidrófobo (Figura 1B). Esses tubos foram mantidos em salas climatizadas ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR de $70\pm 10\%$ e fotofase 12h) até a formação das pupas. As pupas foram então retiradas dos tubos e separadas por sexo para a formação de novas gaiolas.

Figura 1. A) Gaiola de oviposição para *Spodoptera frugiperda*; B) Tubo de vidro com dieta artificial (Fotos: Aline F. Pomari).

Tabela 1. Dieta artificial utilizada para criação de *Spodoptera frugiperda*. Quantidade suficiente para 200 tubos de vidro de fundo chato (2,5 cm de diâmetro x 8 cm de altura) (Kasten Jr. et al., 1978).

Ingredientes	Quantidade
Feijão	334g
Levedura de Cerveja	100g
Germe de Trigo	159g
Ácido Ascórbico	10g
Ácido Sórbico	3,3g
Metil Para-hidroxibenzoato de Sódio	6,3g
Formaldeído 10%	8,3mL
Ágar	40g
Água	2.600mL

1.2.3. Criação de *Corcyra cephalonica*

Para a criação de *C. cephalonica* foi utilizada uma fase larval dieta artificial. A dieta foi composta por germe de trigo (94%) e levedura (6%) (Bernardi et al., 2000). Para o preparo, o germe de trigo foi esterilizado a 150°C por 2 horas visando eliminar a contaminação por outros organismos. Após esse procedimento, foi resfriado em temperatura ambiente e adicionado à levedura.

Para criação da fase larval utilizou-se recipiente plástico de 47,0 x 29,5 x 10,5 cm (Parra, 1997) (Figura 2A). Nesse recipiente foi colocado um quilo de dieta, de modo a ficar igualmente distribuída. A infestação da dieta com ovos de *C. cephalonica* foi realizada fazendo-se quatro sulcos rasos (± 3 mm de profundidade) no sentido da largura da caixa, paralelos entre si, espalhando-se uniformemente os ovos. Foram colocados 0,20 gramas de ovos de *C. cephalonica* para cada quilo de dieta. Em seguida, o recipiente foi fechado com tampa plástica com recorte retangular (30 cm x 15 cm) para fixação de tecido tipo voile a fim de permitir a aeração. Essas caixas permaneceram em sala climatizada a temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotofase de 12 h, até a emergência dos adultos, período este de aproximadamente 65 dias.

Os adultos de *C. cephalonica* foram coletados diariamente utilizando-se um aspirador de pó com o tubo modificado (Figura 2B), de maneira a não causar danos às mariposas. Esses adultos foram acondicionados em recipientes de vidro cilíndrico de 11 cm de diâmetro e altura de 17 cm, na proporção de 60 fêmeas para 40 machos. Dentro do recipiente foi colocada tela tipo sombrite cortada em forma de retângulo e dobrada em “Z”, para as fêmeas utilizarem como superfície de postura. A gaiola foi tampada com sombrite envolto com goma elástica para fixá-lo (Figura 2C). Diariamente foi realizada a coleta dos ovos, virando-se a gaiola em recipiente plástico da cor branca e batendo-se com a palma da mão no fundo da gaiola, de modo que os ovos aderidos ao sombrite se desprendessem e caíssem no recipiente.

Figura 2. A) Recipiente de criação de lagartas de *Corcyra cephalonica*; B) Adaptação realizada no tubo do aspirador de pó, para sucção de adultos e C) Gaiola para acasalamento e oviposição (Fotos: Aline F. Pomari).

1.2.4. Criação de *Telenomus remus*

A criação do parasitoide foi adaptada de Bueno et al. (2008). A metodologia aqui descrita foi estabelecida de acordo com os resultados obtidos nesta tese. Cartelas de cartolina branca (2,5 cm de largura x 5,0 cm de comprimento) foram utilizadas para fixação dos hospedeiros, com cola branca atóxica (30%) (Tenaz®). Ovos de *C. cephalonica*, com até 24 h, inviabilizados, foram fixados na cartela até que estivesse totalmente preenchida, anotando-se a data de parasitismo para controle. Cada cartela foi introduzida em um tubo de vidro (8 cm de altura x 2 cm de diâmetro), contendo outra cartela semelhante, porém previamente parasitada e com adultos de *T. remus* recém-emergidos (até 24 h). Antes da introdução das

cartelas, gotículas de mel foram dispostas na parede interna dos tubos de vidro para a alimentação dos adultos. Após esse procedimento, os tubos foram fechados com filme plástico PVC. Cada um dos tubos continha uma cartela parasitada e outra não parasitada, sendo o parasitismo permitido por 24 horas.

Os tubos foram mantidos em câmara climatizada (T: 25±1°C, UR: 70±10% e fotofase de 12 h). As cartelas com ovos parasitados com 24 h foram retiradas e colocadas em gaiolas limpas e mantidas nas mesmas condições abióticas, também em câmara climatizada, até a emergência dos parasitoides, sendo que os insetos utilizados para o parasitismo foram descartados.

1.3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERNARDI, E.B.; HADDAD, M.L.; PARRA, J.R.P. Comparison of artificial diets for rearing *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865) (Lep., Pyralidae) for *Trichogramma* mass production. **Revista Brasileira de Biologia**, São Carlos, v. 60, n. 1, p. 45-52, 2000.

BIEVER, K.D. Effect of the temperature on the rate of search by *Trichogramma* and its potential application in field releases. **Environmental Entomology**, College Park, v.1, p.194-197, 1972.

BUENO, A.F.; BATISTELA, M.J.; BUENO, R.C.O.F.; FRANÇA-NETO, J.B.; NISHIKAWA, M.A.N.; FILHO, A.L. Effects of integrated pest management, biological control and profilactic use of insecticides on the management and sustainability of soybean. **Crop Protection**, Guildford, v. 30, p. 937-945, 2011.

BUENO, R.C.O.F.; BUENO, A.F.; MOSCARDI, F.; PARRA, J.R.P.; HOFFMANN-CAMPO, C.B. Lepidopteran larvae consumption of soybean foliage: basis for developing multiple-species economic thresholds for pest management decision. **Pest Management Science**, Malden, v. 67, p. 170-174, 2011.

BUENO, R.C.O.F.; CARNEIRO, T.R.; PRATISSOLI, D.; BUENO, A.F.; FERNANDES, O.A. Biology and thermal requirements of *Telenomus remus* reared on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* eggs. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, p.1-6, 2008.

BUENO, R.C.O.F.; PARRA, J.R.P.; BUENO, A.F.; MOSCARDI, F.; OLIVEIRA, J.R.G. Sem barreira. **Revista Cultivar**, Pelotas, v. 55, p. 12-15, 2007.

CAVE, R.D. Biology, ecology and use in pest management of *Telenomus remus*. **Biocontrol**, Dordrecht, v.21, n.1, p. 21-26, 2000.

CRUZ, I. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 314p, 1995.

CRUZ, I. Métodos de criação de agentes entomófagos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). In: BUENO, V.H.P. (ed.). **Controle biológico de pragas: Produção massal e controle de qualidade**. Lavras: Editora UFLA, p. 112-135, 2000.

CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M.L.C.; OLIVEIRA, C.E.; VASCONCELOS, C.A. Damage of *Spodoptera frugiperda* (Smith) in different maize genotypes cultivated in soil under three levels of aluminium saturation. **International Journal of Pest Management**, London, v. 45, p. 293-296, 1999.

DIEZ-RODRIGUES, G.I.; OMOTO, C. Herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) à lambda-cialotrina. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.30, p. 311-316, 2001.

FERRER, F. Biological of agricultural insect pest in Venezuela: advances, achievements, and future perspectives. **Biocontrol News and Information**, Heidelberg, v. 22, p. 67-74, 2001.

GARDNER, S.M.; van LENTEREN, J.C. Characterization of the arrestment responses of *Trichogramma evanescens*. **Oecologia**, Berlim, v.8, p. 265-270, 1986.

GAZZONI, D.L.; YORINORI, J.T. **Manual de identificação de pragas e doenças da soja**. Brasília: Embrapa – SPI, (Manuais de pragas e doenças I), 128p. 1995.

KASTEN JUNIOR, P.; PRECETTI, A.A.C.M.; PARRA, J.R.P. Dados biológicos comparativos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH, 1797) em duas dietas artificiais e substrato natural. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v.53, p.69-78, 1978.

KUMAR, D.A.; PAWAR, A.D; DIVAKAR, B.J. Mass multiplication of *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) on *Corcyra cephalonica* Stainton (Lepidoptera: Galleridae). **Journal of Advanced Zoology**, Gorakhpur, v. 7, p. 21-23, 1986.

LOPES, J.R.S. **Estudos bioetológicos de *Trichogramma galloi* (Zucchi, 1988) (Hym., Trichogrammatidae) para controle de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lep., Pyralidae)**. 144f. 1988. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.Dissertação (Mestrado). 1988.

OLIVEIRA, R.C.; CARNEIRO, T.R.; FERNANDES, O.A. Criação de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) para o controle da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). In: DE BORTOLI, S.A.; BOIÇA JR, A.L.; OLIVEIRA, J.E.M. (Eds.). **Agentes de controle biológico: Metodologias de criação, multiplicação e uso**. Jaboticabal: Funep, p. 151-166, 2006.

PARRA, J.R.P. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Eds.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: Fealq, p.121-150, 1997.

PARRA, J.R.P.; BOTELHO, S.M.; CÔRREA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. **Controle Biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, cp. 1; p. 1-16, 2002.

POMARI, A.F.; BUENO, A.F.; BUENO, R.C.O.F.; MENEZES JUNIOR, A.O. Biological characteristics and thermal requirements of the biological control agent *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) reared on eggs of different species of the genus *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of Entomological Society of America**, Knoxville, v. 105, n.1, p.72-81, 2012.

PREZOTTI, L. **Controle de qualidade de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em criações de laboratório.** 81f. 2001. Tese de doutorado, Piracicaba, ESALQ/USP. 2001.

SÁ, L.A.N.; PARRA, J.R.P.; SILVEIRA NETO, S. Capacidade de dispersão de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 para controle de *Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818 em milho. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.50, p.226-231, 1993.

SOSA-GÓMEZ, D.R.; GAZZONI, D.L.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; MOSCARDI, F. Pragas da soja e seu controle. In: ARANTES, N.P.; SOUZA, P.I.M. (Ed.). **Cultura da soja nos cerrados.** Piracicaba: Potafós, p. 229-231, 1993.

STINNER, R.E.; RIDGWAY, R.L.; COPEDGE, J.R.; MORRISON, R.K.; DICKERSON JUNIOR, W.A. Parasitism of *Heliothis* eggs after field releases of *Trichogramma pretiosum* in cotton. **Environmental Entomology**, Ottawa, v.3, p.497-500, 1974.

CAPÍTULO 2:

Efeito do período de exposição, inviabilização, fixação e geração no parasitismo de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) em ovos de *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae).

2.1. INTRODUÇÃO

O gênero *Spodoptera* é de grande importância por englobar várias espécies que causam danos a diversas culturas de interesse econômico como o milho e a soja, apresentando alto grau de polifagia (Sosa-Gomez et al., 1993). Na cultura do milho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) causa entre 15% e 34% de perda no rendimento agrícola e US\$ 400 milhões em prejuízo econômico anual (Cruz et al., 1999). Já na cultura da soja há maior escassez de estudos, porém, as espécies de maior ocorrência são *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae) que causam danos principalmente a partir do início da fase reprodutiva da cultura quando, além de se alimentar das folhas, atacam também as vagens (Gazzoni & Yorinori, 1995). É importante destacar que *S. cosmioides* consome o dobro da área foliar que as outras espécies do gênero (Bueno et al., 2011), o que mostra a importância do potencial daninho dessa praga na cultura.

A medida de controle dessas pragas predominantemente utilizada pela maioria dos produtores brasileiros de soja e milho é a aplicação de inseticidas. Contudo, a medida exclusivamente química tem acarretado sérios problemas para o controle de pragas, como aumento no custo de produção, eliminação de agentes naturais de controle e seleção de linhagens de pragas resistentes aos inseticidas utilizados e, ainda, contaminação do homem e do meio ambiente (Diez-Rodrigues e Omoto, 2001). Diante deste cenário, o melhor método de controle para estas pragas é o controle biológico aplicado que visa à supressão de populações de pragas agrícolas por meio de liberações inundativas de seus inimigos naturais. Este é um manejo biológico com boa aceitação pelos agricultores por atuar rapidamente, semelhante aos inseticidas convencionais (Parra et al., 2002).

Entre as opções possíveis de controle biológico para o manejo do complexo de espécies do gênero *Spodoptera*, o parasitoide de ovos *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) tem apresentado grande potencial de controle (Bueno et al.,

2008). Estudos relacionados às características biológicas, exigências térmicas e capacidade de parasitismo de *T. remus* em ovos de *Spodoptera* spp. têm demonstrado que o parasitoide age efetivamente sobre ovos de *S. frugiperda* depositados em camadas sobrepostas, parasitando, inclusive, aqueles das mais internas (Bueno et al., 2008), o que não ocorre com outros parasitoides de ovos, como *Trichogramma* spp.

Embora existam vários trabalhos que demonstram a capacidade efetiva de controle de *T. remus* em ovos de espécies do gênero *Spodoptera*; a sua criação em larga escala é restrita a estes hospedeiros, o que a torna onerosa e com alto custo. Assim, existem agentes de controle biológico que são criados em hospedeiros naturais, muitas vezes de maneira onerosa, o que pode inviabilizar a utilização em campo. Por outro lado, existem também os inimigos naturais que podem ser produzidos em hospedeiros alternativos ou de substituição, o que muitas vezes reduz o custo de produção, além de aumentar a eficiência em larga escala. Nesses casos, o parasitoide é criado em hospedeiros não naturais, mas adequados o suficiente para promover bom desenvolvimento dos mesmos (Parra, 1997).

Nesse contexto, o desenvolvimento do parasitoide *T. remus* em ovos de *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) foi relatado por Kumar et al. (1986), porém não há descrição detalhada das técnicas de criação utilizadas. Ainda, esse hospedeiro pode ser facilmente criado em laboratório e em larga escala, em relação à criação do hospedeiro natural, *S. frugiperda*. Assim, diversos experimentos envolvendo período de exposição ao parasitismo, inviabilização dos ovos, substâncias aderentes e gerações foram realizados a fim de determinar uma metodologia para avaliar as características biológicas de *T. remus* em ovos de *C. cephalonica*.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados quatro bioensaios para determinar uma metodologia viável à criação de *T. remus* em ovos de *C. cephalonica*. Inicialmente, para a obtenção de parasitoides

provenientes de ovos do hospedeiro alternativo, *T. remus* foi criado seguindo a mesma metodologia proposta no item 1.2.4.

2.2.1. Influência da inviabilização do hospedeiro e tempo de exposição ao parasitismo nas características biológicas de *Telenomus remus* em ovos de *Corcyra cephalonica* e *Spodoptera frugiperda*

O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado com 7 tratamentos (Tabela 2) e 4 repetições (sendo cada repetição constituída por cinco fêmeas individualizadas). Os insetos foram mantidos em câmara climatizada tipo BOD, regulada a temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Foram utilizados ovos de *C. cephalonica* (hospedeiro alternativo) comparando-se com os de *S. frugiperda* (hospedeiro natural). Os parasitoides utilizados foram provenientes da criação mantida em ovos de *S. frugiperda* em condições controladas (T: $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR: $70\pm 10\%$ e fotofase: 14 h). Os tratamentos analisados envolveram os fatores: hospedeiros, inviabilização de ovos (Figura 3A) e tempo de exposição ao parasitismo (Tabela 2).

Para condução do experimento, fêmeas recém-emergidas (com até 24 h) de *T. remus* foram individualizadas em tubos tipo Duran (6 cm x 1 cm), contendo no interior uma gotícula de mel. As posturas, contendo aproximadamente 100 ovos de cada hospedeiro (com até 24 h), foram coladas em cartelas de cartolina branca (2,5 cm x 5 cm), previamente identificadas com os respectivos tratamentos (Figura 3B). Foi utilizada cola branca atóxica (Tenaz®) para os ovos de *S. frugiperda* e para os ovos de *C. cephalonica* diluída em água a 30%. As cartelas foram individualmente introduzidas nos tubos contendo uma fêmea e posteriormente foram fechados com filme plástico PVC, sendo o parasitismo permitido por 24 h para o hospedeiro natural e 24; 48 e 72 h para o hospedeiro alternativo. Após o parasitismo, as cartelas foram retiradas e colocadas, individualmente, em tubos de vidro de fundo chato (8 cm x 2 cm de diâmetro), os quais foram mantidos nas mesmas condições descritas até a emergência dos

adultos. Para a avaliação da longevidade das fêmeas parentais, elas também foram mantidas nas mesmas condições, sendo observadas diariamente até a morte. Os parâmetros biológicos avaliados foram: número de ovos parasitados, porcentagem de emergência (viabilidade), período ovo-adulto, razão sexual e longevidade das fêmeas parentais.

Os resultados obtidos foram submetidos a análise exploratória para avaliar as pressuposições de normalidade dos resíduos, homogeneidade de variância dos tratamentos e aditividade do modelo para permitir a aplicação da ANOVA (Burr & Foster, 1972; Shapiro & Wilks, 1965). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) (SAS Institute, 2001).

Tabela 2. Tratamentos utilizados no experimento de biologia de *Telenomus remus* em ovos de *Spodoptera frugiperda* e *Corcyra cephalonica*

Hospedeiro	Tratamento
<i>S. frugiperda</i>	T1: Ovos não inviabilizados; 24h de parasitismo (Testemunha)
<i>C. cephalonica</i>	T2: Ovos não inviabilizados; 24h de parasitismo
<i>C. cephalonica</i>	T3: Ovos inviabilizados; 24h de parasitismo
<i>C. cephalonica</i>	T4: Ovos não inviabilizados; 48h de parasitismo
<i>C. cephalonica</i>	T5: Ovos inviabilizados; 48h de parasitismo
<i>C. cephalonica</i>	T6: Ovos não inviabilizados; 72h de parasitismo
<i>C. cephalonica</i>	T7: Ovos inviabilizados; 72h de parasitismo

Figura 3. A) Câmara com luz ultravioleta para inviabilização de ovos de *Corcyra cephalonica*; B) Cartelas contendo ovos de *Spodoptera frugiperda* e *C. cephalonica* (Fotos: Aline F. Pomari).

2.2.2. Características biológicas de *Telenomus remus* provenientes de ovos de *Corcyra cephalonica* (F1), expostos a diferentes períodos de parasitismo.

O parasitismo de *T. remus* na primeira geração é muito baixo ou, por vezes, inexistente. Assim, um grande número de parasitoides criados em ovos de *S. frugiperda* foram colocados em um recipiente onde foi ofertado ovos de *C. cephalonica*. Desta forma, foi possível obter a geração parental e realizar este experimento.

Levando em consideração que os ovos de *C. cephalonica* precisam ser inviabilizados antes de serem oferecidos ao parasitismo de *T. remus*, neste ensaio foi utilizada a mesma metodologia descrita no item 2.2.1. Porém, foram avaliados apenas 3 tratamentos, todos com ovos inviabilizados, diferindo apenas no tempo de exposição ao parasitismo em ovos de *C. cephalonica*.

O ensaio foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado com 3 tratamentos (24; 48 e 72 h de exposição de ovos de *C. cephalonica* ao parasitismo) de *T. remus* e 4 repetições (sendo cada repetição constituída de cinco fêmeas individualizadas). Os parâmetros biológicos avaliados foram: número de ovos parasitados, porcentagem de emergência (viabilidade), período ovo-adulto, razão sexual e longevidade das fêmeas parentais. Os resultados obtidos foram submetidos à análise exploratória para avaliar as pressuposições de normalidade dos resíduos, homogeneidade de variância dos tratamentos e aditividade do modelo para permitir a aplicação da ANOVA (Burr & Foster, 1972; Shapiro & Wilks, 1965). As médias, quando significativas, foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) (SAS Institute, 2001).

2.2.3. Influência de cola branca e goma arábica como métodos de fixação dos ovos de *Corcyra cephalonica* nas características biológicas de *Telenomus remus*.

O bioensaio foi conduzido a fim de verificar a influência de substâncias utilizadas para fixar ovos de *C. cephalonica* nas cartelas no desempenho do parasitismo de *T. remus*. A metodologia empregada foi a mesma dos experimentos anteriores, apenas com ovos de *C. cephalonica* inviabilizados e expostos ao parasitismo por 24 h.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 3 tratamentos e 4 repetições (sendo cada repetição constituída de cinco fêmeas). Os parâmetros biológicos avaliados foram: período ovo-adulto (dias), número de ovos parasitados, viabilidade do parasitismo (%), razão sexual e longevidade das fêmeas parentais (dias). Para a determinação da duração do período ovo-adulto foram realizadas observações diárias da emergência dos adultos de *T. remus*. Os resultados obtidos foram submetidos à análise exploratória para avaliar as pressuposições de normalidade dos resíduos, homogeneidade de variância dos tratamentos e aditividade do modelo para permitir a aplicação da ANOVA (Burr & Foster, 1972; Shapiro & Wilks, 1965). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) (SAS Institute, 2001).

2.2.4. Características biológicas de *Telenomus remus* em ovos de *Corcyra cephalonica* utilizando maior densidade de fêmeas do parasitoide e com diferentes períodos de parasitismo.

Este experimento foi realizado empregando-se a mesma metodologia proposta inicialmente para ensaios anteriores, diferindo apenas na utilização de aproximadamente 30 parasitoides recém-emergidos (até 24h) ao invés de apenas uma fêmea. A razão sexual foi cercade 0,7 (20 fêmeas). O número de hospedeiros oferecido para o parasitismo foi o mesmo, aproximadamente 100 ovos inviabilizados de *C. cephalonica* e fixados com cola branca atóxica (30%) e para o parasitismo de aproximadamente 100 ovos de *S. frugiperda* (testemunha) (Tabela 3). Os parâmetros biológicos avaliados foram: período ovo-adulto (dias), número de ovos parasitados, viabilidade do parasitismo (%), razão sexual e longevidade das fêmeas parentais (dias). Para avaliar a longevidade das fêmeas parentais de *T. remus* foi individualizada uma fêmea de cada repetição, após o parasitismo, sendo observada diariamente até a morte.

Tabela 3. Tratamentos utilizados no experimento de *Telenomus remus* em ovos de *Corcyra cephalonica* com alta densidade de fêmeas.

Hospedeiro	Tratamento
<i>S. frugiperda</i>	Testemunha: Ovos não inviabilizados; 24h de parasitismo
<i>C. cephalonica</i>	T1: Ovos inviabilizados; 24h de parasitismo
<i>C. cephalonica</i>	T2: Ovos inviabilizados; 48h de parasitismo
<i>C. cephalonica</i>	T3: Ovos inviabilizados; 72h de parasitismo

Os resultados obtidos foram submetidos à análise exploratória para avaliar as pressuposições de normalidade dos resíduos, homogeneidade de variância dos tratamentos e aditividade do modelo para permitir a aplicação da ANOVA (Burr & Foster, 1972; Shapiro & Wilks, 1965). As médias das características biológicas obtidas entre os hospedeiros *S. frugiperda* x *C. cephalonica* foram comparadas pelo teste t de Student ($p \leq 0,05$) de probabilidade e as médias das características biológicas obtidas nos períodos de exposição ao parasitismo (24, 48 e 72 h) foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) (SAS Institute, 2001).

2.3. RESULTADOS

2.3.1. Influência da inviabilização do hospedeiro e tempo de exposição ao parasitismo nas características biológicas de *Telenomus remus* em ovos de *Corcyra cephalonica* e *Spodoptera frugiperda*.

Não foi possível comparar os parâmetros biológicos dos descendentes *T. remus* criado em ovos de *C. cephalonica* e *S. frugiperda*, porque não ocorreu emergência de adultos do parasitoide. Já em ovos do hospedeiro natural, foi possível determinar as médias dos parâmetros biológicos avaliados, sendo demonstrados na Tabela 4.

Tabela 4. Características biológicas de *Telenomus remus* criado em ovos de *Spodoptera frugiperda*. Temperatura de 25±2°C, umidade relativa de 70±10% e fotofase de 12h.

Hospedeiro	Período ovo-adulto (dias) ¹	Número de ovos parasitados ¹	Viabilidade (%) ¹	Razão Sexual ¹	Longevidade (dias) ¹
<i>S. frugiperda</i>	11,53 ± 0,18	92,64 ± 2,09	96,79 ± 0,51	0,78 ± 0,02	7,60 ± 1,44
CV(%)	5,44	16,10	9,14	11,68	38,06

¹Médias ± EPM.

2.3.2. Características biológicas de *Telenomus remus* provenientes de ovos de *Corcyra cephalonica* (F1), expostos a diferentes tempos de parasitismo.

Todos os parâmetros biológicos avaliados: porcentagem de ovos parasitados ($F_{2, 26} = 1,11$; $P = 0,3454$), período ovo-adulto ($F_{2, 26} = 0,58$; $P = 0,5660$), viabilidade do parasitismo ($F_{2, 26} = 0,99$; $P = 0,3855$), razão sexual da progênie ($F_{2, 26} = 1,44$; $P = 0,2548$) e longevidade das fêmeas parentais ($F_{2, 26} = 1,64$; $P = 0,2007$) não apresentaram diferenças quando os ovos do hospedeiro foram submetidos a diferentes tempos de exposição ao parasitismo (Tabela 5).

Tabela 5. Características biológicas de *Telenomus remus* criado em ovos de *Corcyra cephalonica* (1ª geração) e expostos a diferentes tempos de parasitismo. (T: 25 ± 2°C, UR: 70±10% e Fotofase: 12h.

Tempo de Parasitismo (h)	Parasitismo (%) ¹	Período ovo-adulto (dias) ¹	Viabilidade (%) ¹	Razão Sexual ¹	Longevidade (dias) ¹
24	29,26 ± 5,89 ^{ns}	13,71 ± 0,18 ^{ns}	80,76 ± 5,51 ^{ns}	0,77 ± 0,66 ^{ns}	7,65 ± 0,81 ^{ns}
48	29,88 ± 2,69	13,89 ± 0,11	70,83 ± 5,10	0,77 ± 0,45	9,27 ± 1,02
72	36,05 ± 3,13	14,00 ± 0,20	74,86 ± 3,55	0,68 ± 0,36	10,08 ± 1,03
CV(%)	35,75	4,07	18,69	19,57	54,57

¹Médias ± (EPM). ^{ns}Diferença não significativa (Teste de Tukey, $P \leq 0,05$).

2.3.3. Influência de cola branca e goma arábica como métodos de fixação dos ovos de *Corcyra cephalonica* nas características biológicas de *Telenomus remus*.

A fim de avaliar os possíveis fatores que resultaram no insucesso dos experimentos anteriores, foram analisados diferentes métodos de fixação de ovos do hospedeiro alternativo avaliando-se a influência deste processo sobre a fêmea do parasitoide (longevidade), bem

como nos seus descendentes. Assim, para as diferentes substâncias de aderência de ovos, o número de ovos parasitados ($F_{2, 47} = 2,37$; $P = 0,0515$), o período ovo-adulto ($F_{2, 50} = 2,88$; $P = 0,1643$), a viabilidade dos ovos ($F_{2, 47} = 1,18$; $P = 0,2873$), a razão sexual da progênie ($F_{2, 45} = 0,01$; $P = 0,8997$) e a longevidade das fêmeas parentais ($F_{2, 53} = 0,79$; $P = 0,4201$) não apresentaram diferença entre os tratamentos avaliados (Tabela 6).

Tabela 6. Características biológicas de *Telenomus remus* criado em ovos de *Corcyra cephalonica* (10ª geração) e expostos a diferentes substâncias de aderência de ovos. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Tratamento	Período ovo-adulto (dias) ¹	Número de ovos parasitados ¹	Viabilidade (%) ^{1,2}	Razão Sexual ¹	Longevidade (dias) ¹
Água	$12,36 \pm 0,11^{\text{ns}}$	$65,07 \pm 3,15^{\text{ns}}$	$87,16 \pm 3,69^{\text{ns}}$	$0,67 \pm 0,03^{\text{ns}}$	$10,42 \pm 1,27^{\text{ns}}$
Goma arábica	$12,61 \pm 0,15$	$64,89 \pm 4,08$	$86,48 \pm 4,02$	$0,65 \pm 0,04$	$11,02 \pm 1,18$
Cola branca	$12,54 \pm 0,12$	$63,83 \pm 3,87$	$88,95 \pm 4,16$	$0,66 \pm 0,03$	$10,49 \pm 1,02$
CV(%)	4,28	18,09	24,09	18,33	24,21

¹Médias $\pm$ EPM. ²Resultados originais seguidos da análise realizada com os dados transformados em $\arcseno \sqrt{X / 100}$. ^{ns}Diferença não significativa (Teste de Tukey, $P \leq 0,05$).

2.3.4. Características biológicas de *Telenomus remus* em ovos de *Corcyra cephalonica* utilizando maior densidade de fêmeas do parasitoide e com diferentes períodos de parasitismo

Empregando-se a metodologia utilizada para criação do parasitoide (Item 1.2.4), os parâmetros biológicos de *T. remus* puderam ser avaliados em ovos de *C. cephalonica* e comparados aos ovos do hospedeiro natural, *S. frugiperda*. O período ovo-adulto foi maior quando *T. remus* completou seu desenvolvimento em ovos de *C. cephalonica* ($F_{1, 34} = 100,80$; $P < 0,0001$). Diferentemente, o parasitismo ($F_{1, 34} = 26,21$; $P < 0,0001$), a viabilidade dos ovos parasitados ($F_{1, 34} = 37,66$; $P < 0,0001$) e a razão sexual ($F_{1, 32} = 12,33$; $P = 0,0014$) foram superiores quando o parasitoide foi criado em ovos do hospedeiro natural *S. frugiperda*, enquanto a longevidade das fêmeas parentais ($F_{1, 37} = 1,25$; $P = 0,2700$) não diferiu entre eles (Tabela 7).

Tabela 7. Características biológicas de *Telenomus remus* criado em ovos de *Spodoptera frugiperda* e *Corcyra cephalonica*. Temperatura de 25±2°C, umidade relativa de 70±10% e fotofase de 12h.

Hospedeiros	Período ovo-adulto (dias) ¹	Número de ovos parasitados ^{1;2}	Viabilidade (%) ¹	Razão Sexual ¹	Longevidade (dias) ¹
<i>S. frugiperda</i>	11,53 ± 0,18 a	92,64 ± 2,09 a	96,79 ± 0,51 a	0,78 ± 0,02 a	7,60 ± 1,44 ^{ns}
<i>C. cephalonica</i>	12,65 ± 0,12 b	48,27 ± 4,11 b	80,14 ± 2,82 b	0,68 ± 0,03 b	9,42 ± 1,36
CV(%)	5,44	16,10	9,14	11,68	38,06

¹Médias ± EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si significativamente (Teste t de Student; $P \leq 0,05$). ²Resultados originais seguidos da análise realizados com os dados transformados em arco-seno $\sqrt{X / 100}$.

.^{ns}Diferença não significativa.

Quando comparado diferentes tempos de exposição ao parasitismo utilizando-se como hospedeiro *C. cephalonica*, os parâmetros porcentagem de parasitismo ($F_{2, 47} = 2,99$; $P < 0,0600$), período ovo-adulto ($F_{2, 50} = 2,90$; $P = 0,0643$), viabilidade dos ovos parasitados ($F_{2, 47} = 1,27$; $P = 0,2905$), razão sexual ($F_{2, 45} = 0,01$; $P = 0,9908$) e longevidade das fêmeas parentais ($F_{2, 53} = 0,89$, $P = 0,4156$) não apresentaram diferença (Tabela 8).

Tabela 8. Características biológicas de *Telenomus remus* criado em ovos de *Corcyra cephalonica* e expostos a diferentes tempos de parasitismo. Temperatura de 25±2°C, umidade relativa de 70±10% e fotofase de 12h.

Tratamento	Período ovo-adulto (dias) ¹	Número de ovos parasitados ¹	Viabilidade (%) ^{1,2}	Razão Sexual ¹	Longevidade (dias) ¹
24horas	12,65 ± 0,12 ^{ns}	48,27 ± 4,11 ^{ns}	80,15 ± 2,82 ^{ns}	0,66 ± 0,04 ^{ns}	9,42 ± 1,36 ^{ns}
48horas	12,72 ± 0,14	60,96 ± 3,02	74,37 ± 3,04	0,66 ± 0,04	10,32 ± 1,01
72horas	13,06 ± 0,13	57,78 ± 4,13	79,98 ± 3,02	0,65 ± 0,03	11,50 ± 1,40
CV(%)	4,19	28,07	14,48	21,27	28,16

¹Médias ± EPM. ²Resultados originais seguidos da análise realizada com os dados transformados em arco-seno $\sqrt{X / 100}$. ^{ns}Diferença não significativa (Teste de Tukey, $P \leq 0,05$).

2.4. DISCUSSÃO

Possivelmente, a ausência de parasitismo em ovos de *C. cephalonica* nos primeiros experimentos (itens 2.1.1 e 2.1.2), utilizando-se fêmeas individualizadas de *T. remus* e provenientes de ovos de *S. frugiperda*, está correlacionada à recusa do parasitoide aos ovos de *C. cephalonica*, por não ser o hospedeiro natural. Essa conclusão é ratificada pelo

experimento em que se utilizaram fêmeas criadas em ovos do hospedeiro alternativo por apenas uma geração e assim obtido parasitismo. Nesse contexto, é possível afirmar que os parasitoides apresentam comportamento de procura e parasitismo que podem ser inatos ao parasitoide, como consequência da genética da espécie (condicionamento pré-imaginal), ou apresentar flexibilidade e desenvolver padrões que podem ser aprendidos, como resultado da experiência adquirida (Beserra & Parra, 2003). Parasitoides podem aceitar ou rejeitar um hospedeiro em potencial antes ou durante o ataque, ou algumas características do hospedeiro podem impedir a oviposição ou inibir, subsequentemente, o desenvolvimento do parasitoide (Marston & Ertle, 1969) e possivelmente é o que ocorre com *T. remus* quando criado em ovos de *S. frugiperda* e submetido ao parasitismo em *C. cephalonica*.

A presença do condicionamento pré-imaginal de *T. remus* aos ovos de *S. frugiperda* é reforçada quando avaliado o tempo de exposição ao parasitismo, uma vez que para tal foram utilizadas fêmeas criadas em ovos de *C. cephalonica* por uma geração, observando-se parasitismo. Kumar et al. (1986) relataram que nas primeiras gerações o parasitismo de *T. remus* em ovos de *C. cephalonica* foi baixo, mas, a partir da sétima geração tornou-se estável. Assim, em geral, é possível afirmar que, a ausência e presença de parasitismo na 1ª e na 2ª gerações da progênie, respectivamente, confirmam a existência de condicionamento pré-imaginal, e os parasitoides podem aprender sinais associados ao hospedeiro durante a emergência, influenciando na preferência pelo hospedeiro futuro (Corbet, 1985; Hastings & Godfray, 1999).

A ausência de diferença no parasitismo quando períodos diferentes de exposição do hospedeiro foram utilizados pode estar relacionado ao comportamento do parasitoide em relação ao seu hospedeiro. Kaiser et al. (1989) descreveram que o parasitismo sofre influência direta da combinação entre o condicionamento pré-imaginal do hospedeiro de criação e o aprendizado obtido após a experiência de oviposição.

Em relação às substâncias utilizadas para aderir os ovos nas cartelas, verificou-se que nenhuma delas afetou a busca das fêmeas pelos ovos, observação esta suportada pelos resultados obtidos no experimento, onde foram utilizadas fêmeas criadas em ovos de *C. cephalonica* por 10 gerações, não apresentando diferença entre os parâmetros avaliados para os três métodos de fixação.

A partir dos dados obtidos nos experimentos realizados para o estabelecimento de uma metodologia viável ao estudo das características biológicas, foi possível verificar diferenças nos parâmetros biológicos da progênie dos dois hospedeiros, sendo, porém, as melhores características observadas para parasitoides obtidos nos ovos de *S. frugiperda*. Em contrapartida, tal fato reforça a hipótese do condicionamento pré-imaginal ao hospedeiro de criação. Kaiser et al. (1989) constataram que a criação de *Trichogramma maidis* Pintureau & Voegelé (Hymenoptera: Trichogrammatidae) provenientes de ovos de *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae) em um hospedeiro não preferencial, ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae), aumentou a afinidade por esta espécie menos preferida ao longo das gerações.

Com os resultados obtidos em todos os experimentos, foi possível determinar as características biológicas de *T. remus* em ovos de *C. cephalonica* e conhecer os alguns parâmetros que influenciam a criação neste hospedeiro. Deste modo, os padrões de parasitismo verificados para *T. remus* são suportados pelo comportamento de forrageamento e parasitismo que podem ser inatos ou podem apresentar padrões de aprendizado, como consequência da experiência obtida anteriormente. Assim, independentemente dos padrões inatos, as espécies podem modificar o comportamento ao perceberem sinais do ambiente em que eles foram expostos quando jovens ou quando adultos, sendo este fenômeno conhecido como aprendizado associativo ou α -condicionamento (Vinson, 1998; Nurindah & Cribb, 1997).

2.5. CONCLUSÃO

Os resultados determinam que para avaliação dos parâmetros biológicos de *T. remus* em ovos de *C. cephalonica* é necessário utilizar a densidade 20 fêmeas para 100 ovos do hospedeiro, assemelhando-se a metodologia utilizada para a criação massal do parasitoide. Também foi determinado que 24 h de exposição dos ovos ao parasitismo é o tempo necessário para avaliação experimental e criação do parasitoide em ovos do hospedeiro alternativo. Ainda, foi possível afirmar que as três substâncias avaliadas: água, goma arábica ou cola atóxica podem ser utilizadas para a fixação dos ovos de *C. cephalonica* às cartelas de parasitismo.

Telenomus remus é capaz de se desenvolver em ovos do hospedeiro alternativo *C. cephalonica*, e pode ser criado em larga escala quando é utilizada a densidade de 20 fêmeas para 100 ovos do hospedeiro em 24 h de exposição ao parasitismo.

2.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BESERRA, E.B.; PARRA, J.R.P. Comportamento de parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em posturas de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v.47, n.2, p.205-209, 2003.

BUENO, R.C.O.F.; BUENO, A.F.; MOSCARDI, F.; PARRA, J.R.P.; HOFFMANN-CAMPO, C.B. Lepidopteran larvae consumption of soybean foliage: basis for developing multiple-species economic thresholds for pest management decision. **Pest Management Science**, Malden, v. 67, p. 170-174, 2011.

BUENO, R.C.O.F.; CARNEIRO, T.R.; PRATISSOLI, D.; BUENO, A.F.; FERNANDES, O.A. Biology and thermal requirements of *Telenomus remus* reared on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* eggs. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, p.1-6, 2008.

BURR, I.W.; FOSTER, L.A. **A test for equality of variances**. West Lafayette: University of Purdue, 1972. 26p.

COBERT, S.A. Insect chemosensory responses: a chemical legacy hypothesis. **Ecological Entomology**, London, v. 10, p. 143-153, 1985.

CRUZ, I.; FIGUEIREDO M.L.C.; OLIVEIRA, C.E.; VASCONCELOS, C.A. Damage of *Spodoptera frugiperda* (Smith) in different maize genotypes cultivated in soil under three

levels of aluminium saturation. **International Journal of Pest Management**, London, v. 45, p. 293-296, 1999.

DIEZ-RODRIGUES, G.I.; OMOTO, C. Herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) à lambda-cialotrina. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.30, p. 311-316, 2001.

GAZZONI, D.L.; YORINORI, J.T. **Manual de identificação de pragas e doenças da soja**. Brasília: Embrapa – SPI, (Manuais de pragas e doenças I), 128p, 1995.

HASTINGS, A.; GODFRAY, H.C.J. Learning, host fidelity, and the stability of host-parasitoid communities. **American Naturalist**, Chicago, v. 153, p. 295–301, 1999.

KAISER, L.; PHAM-DELEGUE, M.H.; MASSON, C. Behavioural study of plasticity in host preferences of *Trichogramma maidis* (Hym.:Trichogrammatidae). **Physiological Entomology**, Oxford, v. 14, p.53-60, 1989.

KUMAR, D.A.; PAWAR, A.D; DIVAKAR, B.J. Mass multiplication of *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) on *Corcyra cephalonica* Stainton (Lepidoptera: Galleridae). **Journal of Advanced Zoology**, Gorakhpur, v. 7, p. 21-23, 1986.

MARSTON, N.; ERTLE, L.R. Host age and parasitism by *Trichogramma minutum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Annals of Entomological Society of America**, Knoxville, v. 62, p. 1476-1482, 1969.

NURINDAH, G.G.;CRIBB, B.W. Oviposition behaviour and reproductive performance of *Trichogramma australicum* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared in artificial diet. **Australian Journal of Entomology**, Melbourne,v.36,p. 87-93, 1997.

PARRA, J.R.P.; BOTELHO, S.M.; CÔRREA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. **Controle Biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, cp. 1; p. 1-16, 2002.

PARRA, J.R.P. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Eds.).**Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: Fealq, p.121-150, 1997.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide: statistics**, version 8e. Cary, NC: SAS Institute (2001), 2001.

SHAPIRO, S.S.; WILKS, M.B. An analysys of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, London, v.52, p.591-611, 1965.

SOSA-GÓMEZ, D.R.; GAZZONI, D.L.; CORRÊA-FERREIRA, B.; MOSCARDI, F. Pragas da soja e seu controle. In: ARANTES, N.P.; SOUZA, P.I.M. (Ed.). **Cultura da soja nos cerrados**. Piracicaba: Potafós, p. 229-231, 1993.

VINSON, S.B. The general host selection behavior of parasitoid Hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. **Biological Control**, Orlando,v. 11, p. 79-96, 1998.

CAPÍTULO 3:

Características biológicas de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) em ovos de *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) por várias gerações

3.1. INTRODUÇÃO

Telenomus remus Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) é um parasitoide de ovos de lepidópteros, muitos dos quais são pragas de culturas na Ásia e nas Américas. Esse parasitoide apresenta elevada taxa reprodutiva e é facilmente criado em larga escala, o que o torna um bom agente de controle biológico de lepidópteros-praga, particularmente aqueles do gênero *Spodoptera* (Cave, 2000).

No Brasil, *T. remus* é criado apenas para fins experimentais, sendo utilizado como hospedeiro *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). A criação do parasitoide no hospedeiro natural pode, muitas vezes, inviabilizar a produção por ser muito trabalhosa e exigente em mão-de-obra. Entretanto, existem casos em que o parasitoide é criado em hospedeiros não preferenciais, mas que são adequados o suficiente para promover bom desenvolvimento dos insetos (Parra, 1997). Nesse contexto, *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) foi escolhida como hospedeiro alternativo, porque pode ser facilmente criado em laboratório em grande escala com menor custo, em relação à criação do hospedeiro natural, *S. frugiperda*, sendo que o estudo em ovos de hospedeiros alternativos permite viabilizar a produção eficiente do inimigo natural em laboratório (Bueno et al., 2008).

Porém, para que um parasitoide possa ser criado em ovos do hospedeiro alternativo, o desenvolvimento e parasitismo devem ser levados em consideração. O comportamento de forrageamento e o parasitismo podem ser inatos, como consequência dos padrões fixados no genótipo da espécie (condicionamento pré-imaginal) ou apresentar padrões que podem ser aprendidos, como consequência da experiência obtida durante o processo de forrageamento e parasitismo. Muitos parasitóides são capazes de conseguir, por experiência, aumento na sua capacidade de procura em uma situação ambiental particular ou na preferência por uma dada espécie de hospedeiro. Ao associar os sinais aprendidos durante o parasitismo ou durante o desenvolvimento, a fêmea pode prontamente localizar e parasitar o hospedeiro com maior

eficiência e rapidez (Corbet, 1985; Nurindah et al., 1999). Assim, independente dos padrões inatos, as espécies podem modificar o seu comportamento ao perceberem sinais do ambiente em que eles viveram quando jovens ou adultos, fenômeno conhecido como aprendizado associativo ou α -condicionamento (Vinson, 1998; Nurindah et al., 1999).

Diante destes comportamentos, por vezes encontrados em diferentes espécies de parasitoides, buscou-se conhecer se a experiência inata ou adquirida resultará em uma aceitação desse hospedeiro. Se sim, qual o tempo de experiência de oviposição será necessário? Buscou-se abordar estas questões. Assim, o objetivo desta pesquisa foi avaliar se é possível utilizar a espécie *C. cephalonica* como hospedeiro alternativo para criação massal de *T. remus*.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1. Características biológicas de *Telenomus remus* em ovos de *Corcyra cephalonica* por 19 gerações.

O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado com 12 tratamentos (*T. remus* em ovos de *C. cephalonica* por diferentes gerações) e 20 repetições, em câmara climatizada tipo BOD, regulada para a temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Os parasitoides utilizados foram provenientes de ovos de *S. frugiperda* mantidos em condições controladas (T: $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR: $70\pm 10\%$ e fotofase: 14 h).

Para condução do experimento foram utilizadas 20 fêmeas recém-emergidas (com até 24 h) de *T. remus* para avaliação das gerações de F1 a F7 em ovos de *C. cephalonica* e uma fêmea individualizada para avaliação das demais gerações (F8 a F10, F13 e F19) em tubos tipo Duran, contendo no interior uma gotícula de mel. Aproximadamente 100 ovos inviabilizados de *C. cephalonica* (com até 24 h) foram colados em cartelas de cartolina branca (2,5 cm x 5 cm), previamente identificadas com os respectivos tratamentos. Para a

fixação dos ovos foi utilizada cola branca atóxica (Tenaz®) diluída a 30%. As cartelas foram individualmente introduzidas nos tubos contendo uma fêmea e posteriormente foram fechados com filme plástico PVC, sendo o parasitismo permitido por 24 h. Após o parasitismo, as cartelas foram retiradas e colocadas, individualmente, em tubos de vidro (8 cm x 2 cm de diâmetro), mantidos na mesma condição até a emergência dos adultos. As fêmeas também foram mantidas nas mesmas condições, sendo observadas diariamente até a morte.

Os parâmetros biológicos observados foram: número de ovos parasitados, duração do período ovo-adulto (dias), porcentagem de emergência (viabilidade), razão sexual e longevidade das fêmeas parentais (dias). Para a determinação da duração do período ovo-adulto foram realizadas observações diárias da emergência. Os resultados obtidos foram submetidos à análise exploratória para avaliar as pressuposições de normalidade dos resíduos, homogeneidade de variância dos tratamentos e aditividade do modelo para permitir a aplicação da ANOVA (Burr & Foster, 1972; Shapiro & Wilks, 1965). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) (SAS Institute, 2001).

3.2.2. Características biológicas de *Telenomus remus* provenientes de ovos de *Corcyra cephalonica* por cinco gerações em ovos de *Spodoptera frugiperda*.

O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado com 5 tratamentos e 4 repetições (sendo cada repetição constituída por cinco fêmeas individualizadas), em câmara climatizada/BOD, regulada para a temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas, conforme a metodologia empregada no capítulo 2 (item 2.1.1) e descrita por Pomari et al. (2012). Os tratamentos foram fêmeas de *T. remus* criadas em ovos de *C. cephalonica* por cinco diferentes gerações, sendo elas: F5, F6, F8, F13 e F19, expostas ao parasitismo em ovos de *S. frugiperda* por 24h.

Para condução do experimento aproximadamente 200 ovos de *S. frugiperda* (com até 24 h) foram colados em cartelas de cartolina branca (2,5 cm x 5 cm), previamente identificadas com os respectivos tratamentos. Para a fixação dos ovos foi utilizada cola branca atóxica (Tenaz®). As cartelas foram individualmente introduzidas nos tubos contendo uma fêmea e posteriormente fechados com filme plástico PVC, sendo o parasitismo permitido por 24 h. Após o parasitismo, as cartelas foram retiradas e colocadas, individualmente, em tubos de vidro (8 cm x 2 cm de diâmetro), mantidos na mesma condição em que ocorreu o parasitismo, até a emergência dos adultos. As fêmeas também foram mantidas nas mesmas condições do parasitismo, sendo observadas diariamente até a morte.

Os parâmetros biológicos observados foram: número de ovos parasitados, duração do período ovo-adulto (dias); porcentagem de emergência (viabilidade); razão sexual e longevidade das fêmeas parentais (dias). Para a determinação da duração do período ovo-adulto foram realizadas observações diárias da emergência dos adultos de *T. remus*.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise exploratória para avaliar as pressuposições de normalidade dos resíduos, homogeneidade de variância dos tratamentos e aditividade do modelo para permitir a aplicação da ANOVA (Burr & Foster, 1972; Shapiro & Wilks, 1965). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) (SAS Institute, 2001).

3.2.3. Capacidade de parasitismo de *Telenomus remus* em ovos de *Corcyra cephalonica* por cinco gerações comparativamente a ovos de *Spodoptera frugiperda*.

O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado com 5 tratamentos (*T. remus* provenientes de ovos de *C. cephalonica* em diferentes gerações e *T. remus* provenientes de ovos de *S. frugiperda*) e 6 repetições (cada repetição constituída por cinco fêmeas individualizadas), em câmara climatizada/BOD, regulada para a temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Foram utilizados

ovos de *C. cephalonica* e comparados aos de *S. frugiperda* para o parasitismo de *T. remus*. Os ovos de *C. cephalonica* foram submetidos a um processo de inviabilização pela exposição à radiação ultravioleta por 30 minutos (Stein & Parra, 1987).

Posturas dos dois hospedeiros (aproximadamente 100 ovos) com até 24h de idade foram coladas, com cola atóxica branca para *S. frugiperda* e diluída a 30% para *C. cephalonica*, em cartelas de cartolina branca (2,5 cm x 5 cm). Essas cartelas foram introduzidas individualmente em tubos tipo Duran. Anteriormente a introdução das cartelas, foram dispostas gotículas de mel na parede interna dos tubos, sendo colocada uma fêmea de *T. remus* recém-emergida (com até 24h) em cada tubo (Figura 4A). Após a introdução das cartelas, os tubos foram fechados com filme plástico e mantidos em câmara climatizada regulada a temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade de $70\pm 10\%$ e fotofase de 14h. Diariamente, no mesmo horário, as cartelas foram trocadas até a morte das fêmeas, enquanto as cartelas contendo ovos parasitados foram acondicionadas em sacos plásticos (Figura 4B) e mantidas nas mesmas condições, também em câmara climatizada, até a emergência dos parasitoides.

Os parâmetros avaliados foram: número de ovos parasitados diariamente; porcentagem acumulada de parasitismo; número total de ovos parasitados por fêmea e longevidade de fêmeas. O número total de ovos parasitados e a longevidade das fêmeas foram submetidos à análise exploratória para avaliar as pressuposições de normalidade dos resíduos, homogeneidade de variância dos tratamentos e aditividade do modelo para permitir a aplicação da ANOVA (Burr & Foster, 1972; Shapiro & Wilks, 1965), sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p\leq 0,05$) (SAS Institute, 2001).

Figura 4. A) Tubos tipo Duran contendo uma fêmea alimentada com gotícula de mel e B) Cartelas com ovos parasitados acondicionadas em sacos plásticos (Fotos: Aline F. Pomari).

3.3. RESULTADOS

3.3.1. Características biológicas de *Telenomus remus* em ovos de *Corcyra cephalonica* por 19 gerações.

O número de ovos parasitados de *C.cephalonica* ($F_{11, 36} = 2,79$, $P < 0,0001$) diferiu ao longo das gerações, e foi verificado aumento gradual do parasitismo nas gerações de F1 a F7 e estabilidade após este período. A duração média do período ovo-adulto (dias) diferiu entre as gerações ($F_{11, 36} = 36,96$, $P < 0,0001$), sendo menor inicialmente (F1 a F3) e apresentou um aumento de 1 a 2 dias nas demais. A viabilidade dos ovos foi superior a 78% em todas as gerações e apresentou diferença apenas nas gerações de F1 a F6 ($F_{11, 36} = 13,94$, $P < 0,0001$), onde foi possível determinar estabilidade na viabilidade dos ovos da progênie. A longevidade das fêmeas parentais apresentou diferença entre as gerações ($F_{11,36} = 9,16$, $P < 0,0001$), sendo menor nas mais avançadas (F6 a F10, F13 e F19) (Tabela 9).

Tabela 9. Média $\pm$ EP dos aspectos biológicos de *Telenomus remus* criado em ovos de *Corcyra cephalonica* por diferentes gerações.

Geração	Número de ovos parasitados ¹	Período ovo-adulto (dias) ¹	Viabilidade (%) ¹	Razão Sexual ¹	Longevidade (dias) ^{1;2}
F1	2,98 $\pm$ 0,22 g	12,10 $\pm$ 0,42 a	82,58 $\pm$ 1,26 bcd	0,56 $\pm$ 0,03 ^{ns}	10,47 $\pm$ 1,33 c
F2	5,63 $\pm$ 0,17 fg	13,18 $\pm$ 0,12 ab	81,87 $\pm$ 1,23 cd	0,67 $\pm$ 0,04	13,25 $\pm$ 1,15 bc
F3	8,55 $\pm$ 0,11 efg	12,00 $\pm$ 0,00 a	80,17 $\pm$ 1,29 cd	0,65 $\pm$ 0,02	10,37 $\pm$ 1,69 c
F4	12,76 $\pm$ 0,17 ef	14,00 $\pm$ 0,00 bc	78,87 $\pm$ 1,94 d	0,65 $\pm$ 0,02	20,70 $\pm$ 1,53 a
F5	16,00 $\pm$ 0,24 de	15,00 $\pm$ 0,00 e	81,04 $\pm$ 2,39 cd	0,64 $\pm$ 0,04	19,00 $\pm$ 2,55 ab
F6	22,19 $\pm$ 0,25 d	14,00 $\pm$ 0,00 bc	86,24 $\pm$ 0,75 abc	0,62 $\pm$ 0,02	8,59 $\pm$ 0,71 c
F7	38,72 $\pm$ 0,39 c	14,57 $\pm$ 0,31 de	90,26 $\pm$ 1,05 a	0,60 $\pm$ 0,04	10,95 $\pm$ 0,22 c
F8	62,88 $\pm$ 0,88 ab	14,88 $\pm$ 0,07 e	91,78 $\pm$ 1,59 a	0,66 $\pm$ 0,02	9,00 $\pm$ 0,91 c
F9	66,15 $\pm$ 0,95 a	14,55 $\pm$ 0,10 de	89,63 $\pm$ 0,32 a	0,68 $\pm$ 0,04	9,95 $\pm$ 0,71 c
F10	63,15 $\pm$ 0,82 ab	14,10 $\pm$ 0,06 cd	88,46 $\pm$ 0,69 ab	0,62 $\pm$ 0,01	10,50 $\pm$ 0,24 c
F13	55,50 $\pm$ 0,97 b	14,00 $\pm$ 0,00 bc	89,64 $\pm$ 0,29 a	0,64 $\pm$ 0,01	11,60 $\pm$ 0,34 c
F19	61,50 $\pm$ 1,17 ab	14,10 $\pm$ 0,06 cd	90,65 $\pm$ 0,14 a	0,65 $\pm$ 0,03	10,75 $\pm$ 0,34 c
CV(%)	10,26	2,32	2,94	8,88	9,72

¹Médias $\pm$ EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si (Teste de Tukey, $P \leq 0,05$). ²Análise realizada com os dados transformados em $\sqrt{x}$.

3.3.2. Características biológicas de *Telenomus remus* provenientes de ovos de *Corcyra cephalonica* por cinco gerações em ovos de *Spodoptera frugiperda*.

O número de ovos parasitados ($F_{4, 15} = 37,40$, $P < 0,0001$) decresceu ao longo das gerações, sendo maior na F5. Diferentemente desse parâmetro, a viabilidade dos ovos ($F_{4, 15} = 6,40$, $P = 0,0033$) foi maior nas gerações F8, F13 e F19, apresentando valores superiores a 90%. O período ovo-adulto ($F_{4, 15} = 51,07$, $P < 0,0001$) diferiu entre as gerações, salientando-se que as fêmeas foram avaliadas a cada 24 h, sendo a diferença constatada pequena (24 h ou menos). Com relação à razão sexual ($F_{4,15} = 17,54$, $P < 0,0001$) houve diferença apenas na 5ª geração, onde ocorreu maior número de machos. Quanto à longevidade das fêmeas parentais ($F_{4, 15} = 30,25$, $P < 0,0001$) nas gerações F5 e F6 elas foram mais longevas em relação às demais (Tabela 10).

Tabela 10. Características biológicas de *Telenomus remus* provenientes de ovos de *Corcyra cephalonica* por diferentes gerações e expostos ao parasitismo em ovos de *Spodoptera frugiperda*. Temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Geração	Número de ovos parasitados ¹	Período ovo-adulto (dias) ¹	Viabilidade (%) ¹	Razão Sexual ¹	Longevidade (dias) ¹
F5	170,10 $\pm$ 9,85 a	10,00 $\pm$ 0,00 a	88,44 $\pm$ 5,32 ab	0,40 $\pm$ 0,04 b	15,75 $\pm$ 0,90 a
F6	65,18 $\pm$ 10,08 b	11,59 $\pm$ 0,14 c	73,16 $\pm$ 5,91 b	0,63 $\pm$ 0,03 a	9,00 $\pm$ 0,91 a
F8	81,65 $\pm$ 7,00 b	11,25 $\pm$ 0,14 c	91,14 $\pm$ 2,66 a	0,66 $\pm$ 0,01 a	7,15 $\pm$ 0,41b
F13	49,45 $\pm$ 6,30 b	11,00 $\pm$ 0,00 b	96,92 $\pm$ 2,22 a	0,75 $\pm$ 0,03 a	7,85 $\pm$ 0,79 b
F19	51,60 $\pm$ 6,89 b	11,10 $\pm$ 0,00 b	97,40 $\pm$ 0,72 a	0,72 $\pm$ 0,03 a	6,60 $\pm$ 0,55 b
CV(%)	19,58	1,51	8,71	10,34	14,90

¹Médias $\pm$ EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si (Teste de Tukey, $P\leq 0,05$).

3.3.3. Capacidade de parasitismo de *Telenomus remus* em ovos de *Corcyra cephalonica* por cinco gerações comparativamente a ovos de *Spodoptera frugiperda*.

O número de ovos de *C. cephalonica* parasitados ($F_{4, 20} = 38,30$, $P < 0,0001$) aumentou ao longo das gerações, sendo semelhante na F19 à quantidade de ovos parasitados em *S. frugiperda*. A viabilidade dos ovos parasitados ($F_{4, 20} = 238,90$, $P < 0,0001$) diferiu entre os hospedeiros, independente da geração do hospedeiro alternativo, sendo que os parasitoides provenientes de ovos de *S. frugiperda* apresentaram maior viabilidade (87,8%) em relação àqueles criados em ovos de *C. cephalonica* em diferentes gerações ($\approx 75\%$). A razão sexual da progênie ($F_{4, 18} = 8,92$, $P = 0,0004$) não diferiu entre os tratamentos, apresentando valores superiores a 66% de fêmeas, enquanto a longevidade das fêmeas ($F_{4, 20} = 9,21$, $P < 0,0001$) foi maior quando provenientes de ovos de *C. cephalonica*, independente da geração (Tabela 11).

Para ambos os hospedeiros, *S. frugiperda* e *C. cephalonica*, sendo este último avaliado nas gerações F1, F8, F13 e F19, o maior parasitismo ocorreu nas primeiras 24 horas e o número médio de ovos parasitados foi de 56,94; 5,57; 9,08; 24,65 e 35,80, respectivamente (Figura 5). O parasitismo diário decresceu ao longo da vida das fêmeas de *T. remus*, em todos os tratamentos, mostrando assim que o parasitismo tende a diminuir ao longo do tempo (Figura 5). Em ambos os hospedeiros e nas diferentes gerações de *C. cephalonica*, o maior parasitismo diário ocorreu nas primeiras 24 horas (Figura 5), sendo que

as fêmeas de *T. remus*, parasitando ovos de *C. cephalonica* nas gerações F1, F8, F13 e F19 atingiram parasitismo de 80% aos 10, 9, 6 e 6 dias, respectivamente, enquanto em ovos de *S. frugiperda* foi no quinto dia (Figura 5).

Tabela 11. Capacidade de parasitismo de *Telenomus remus* criado em ovos de *Spodoptera frugiperda* comparado a ovos de *Corcyra cephalonica* por diferentes gerações.

Hospedeiro	Geração	Número de ovos parasitados ¹	Viabilidade (%) ¹	Razão Sexual ¹	Longevidade (dias) ¹
<i>S. frugiperda</i>	*	140,80 ± 10,89 a	87,82 ± 1,60 a	0,67 ± 0,02 ^{ns}	8,30 ± 0,79 b
<i>C. cephalonica</i>	F1	30,33 ± 4,15 c	74,97 ± 1,92 b	0,66 ± 0,02	13,10 ± 0,34 a
<i>C. cephalonica</i>	F8	51,47 ± 7,71 c	74,99 ± 2,99 b	0,74 ± 0,02	15,24 ± 0,69 a
<i>C. cephalonica</i>	F13	107,37 ± 6,46 b	77,85 ± 0,92 b	0,71 ± 0,01	13,45 ± 0,28 a
<i>C. cephalonica</i>	F19	122,36 ± 7,48 ab	70,62 ± 1,17 b	0,69 ± 0,01	13,45 ± 0,28 a
CV(%)		18,92	6,39	5,37	9,21

¹Médias ± EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si e ^{ns}Diferença não significativa (Teste de Tukey, P≤0,05). **T. remus* criado em ovos de *S. frugiperda* por 225 gerações.

Figura 5. Parasitismo diário e acumulado de *Telenomus remus* em ovos de (A) *Spodoptera frugiperda*, (B) *Corcyra cephalonica* – geração F1, (C) *C. cephalonica* – geração F8, (D) *C. cephalonica* – geração F13 e (E) *C. cephalonica* – geração F19. T: $25\pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 h. As setas indicam 80% de parasitismo.

3.4. DISCUSSÃO

O aumento do parasitismo ao longo das gerações em ovos de *C. cephalonica* sugere a existência de condicionamento pré-imaginal em *T. remus*, em relação aos ovos do hospedeiro

de criação, situação esta que, por um processo de aprendizado, aumentou o parasitismo ao longo das gerações no hospedeiro alternativo. Esse processo, observado em *T. remus*, foi descrito por Nurindah et al. (1999), que afirmaram que muitos parasitoides, por experiência, apresentam aumento na capacidade de procura em uma situação ambiental particular ou por outra espécie de hospedeiro. Assim, ao associar os sinais aprendidos no processo de parasitismo ou durante o desenvolvimento, a fêmea pode prontamente localizar e parasitar o hospedeiro com maior eficiência e rapidez. O processo de aprendizado, em muitos parasitoides, ocorre no momento da emergência, podendo influenciar a futura preferência hospedeira (Corbet, 1985; Hérard et al., 1988; Vet & Groenewold, 1990). Independente da forma de aprendizado exercida pelo parasitoide no decorrer das gerações, Kumar et al (1986) citam que o desenvolvimento de *T. remus* em ovos de *C. cephalonica* não é bom, com baixo parasitismo, sendo que a partir da sétima geração atinge 100%, o que foi ratificado pelos os resultados obtidos neste trabalho, bem como o provável processo de aprendizado que ocorreu nesta espécie.

Com relação ao período de desenvolvimento do parasitoide (ovo-adulto), valores semelhantes (12,6 dias) aos verificados nas primeiras gerações ($\approx$ 12,7 dias) foram relatados em ovos do hospedeiro natural, *S. frugiperda*, por Pomari et al. (2012). Porém, o aumento do período ovo-adulto, bem como a estabilidade ao longo do tempo ($\approx$ 14 dias) em *C. cephalonica*, pode indicar que hospedeiro é nutricionalmente inferior ao hospedeiro natural, necessitando, assim, o parasitoide, de um maior período para completar o desenvolvimento. Nesse sentido, Grenier (1994) relatou que, diferenças nesse parâmetro biológico podem estar relacionadas ao tamanho e à qualidade nutricional do ovo hospedeiro, que pode conter maior ou menor quantidade de nutrientes e que, parasitoides criados em condições inferiores de nutrição, têm o desenvolvimento retardado. Ainda, Pratissoli & Parra (2000), trabalhando com *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), afirmaram que o

desenvolvimento biológico do parasitoide depende de vários fatores, como por exemplo, a adaptação da espécie e o hospedeiro.

A alta viabilidade dos ovos indica que *C. cephalonica* é um hospedeiro favorável ao desenvolvimento de *T. remus*, pois os valores foram semelhantes e superiores a 78% em todas as gerações e, na medida em que ocorreu aumento no número de ovos parasitados, a viabilidade também aumentou. Adicionalmente, valores semelhantes foram encontrados para *T. remus* em ovos de *S. frugiperda*, hospedeiro natural, e de outras espécies do mesmo gênero (Bueno et al., 2008; Pomari et al., 2012). Ainda, é possível dizer que, visando liberações massais, a alta porcentagem de emergência é uma característica favorável ao parasitoide, principalmente quando associada à alta porcentagem de parasitismo.

A razão sexual é outra característica biológica importante em programas de controle biológico aplicado, sendo desejável a maior produção de fêmeas, visto que elas são as responsáveis pelo parasitismo (Navarro, 1998; Bueno et al., 2008). Nesse contexto, a ausência de diferença entre as gerações indica que a utilização de ovos de *C. cephalonica* criação do parasitoide não prejudica o desenvolvimento de fêmeas de *T. remus*, o que está de acordo com o reportado por West et al. (1996) e Ueno (1999), que afirmaram que no caso de parasitoides, as fêmeas parentais escolhem hospedeiros maiores para o desenvolvimento das fêmeas de sua progênie. Adicionalmente, as porcentagens de fêmeas obtidas foram semelhantes às aquelas verificadas para o hospedeiro de criação e outros do mesmo gênero (Pomari et al., 2012). Assim, o tamanho inferior dos ovos de *C. cephalonica*, em relação aos hospedeiros preferenciais, não influenciou esse parâmetro biológico.

Em relação a longevidade das fêmeas parentais, esta característica está diretamente relacionada a um maior ou menor gasto energético no parasitismo. Isso pode ser confirmado pelos dados obtidos, visto que, as menores longevidades estão diretamente relacionadas ao maior parasitismo. Essa relação foi verificada anteriormente por Almeida (2004), que avaliando *Trichogramma atopovirilia* (Oatman & Platner) (Hymenoptera:

Trichogrammatidae), determinou que o maior gasto energético das fêmeas foi observado no parasitismo, primeiramente com a introdução do ovipositor e oviposição, seguido da avaliação do hospedeiro pelo contato com as antenas e caminhar durante a sua avaliação.

Em função dos resultados promissores obtidos para a utilização de *C. cephalonica* como hospedeiro alternativo de *T. remus*, adicionado ao fato da presença de condicionamento pré-imaginal do parasitoide ao hospedeiro de criação, houve uma preocupação quanto a influência do aprendizado no parasitismo e desenvolvimento do parasitoide em ovos de *S. frugiperda* após a criação massal no hospedeiro alternativo, visto que o hospedeiro natural é a praga-alvo a ser controlada em campo.

Assim, para o número de ovos parasitados por *T. remus* criado em *C. cephalonica* por 5 gerações, foi possível verificar valores semelhantes aqueles encontrados quando o parasitoide foi criado em ovos de *S. frugiperda* sucessivamente (Pomari et al., 2012). Por outro lado, nas demais gerações o parasitismo diminuiu, assemelhando-se àqueles encontrados (Tabela 10), onde as fêmeas parasitaram ovos de *C. cephalonica*. Esses dados explicam a redução na capacidade de parasitismo de *T. remus* nas primeiras 24 h ao longo das gerações. Kumar et al. (1986), verificaram que o parasitoide criado por 75 gerações em ovos de *C. cephalonica* parasitando, em todas elas, o hospedeiro natural *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae). É importante salientar ainda que, para este experimento foram utilizadas apenas posturas de *S. frugiperda* com 2 camadas ou mais e, em todas as gerações de *T. remus* criado em ovos de *C. cephalonica*, as fêmeas não perderam a capacidade de parasitar as camadas de ovos sobrepostas de *S. frugiperda*, fato este relevante, uma vez que a maior eficiência de controle de *T. remus* reside nesta habilidade.

O número de ovos parasitados é um parâmetro diretamente avaliado pela porcentagem de emergência. Assim, a viabilidade superior a 90% assemelha-se aquelas encontradas por Pomari et al. (2012) utilizando parasitoides criados sucessivamente em ovos

de *S. frugiperda*. Estes resultados indicam que o parasitismo e a viabilidade não foram influenciados pela mudança do hospedeiro de criação.

Com relação ao período ovo-adulto, foi possível observar a qualidade nutricional desta espécie hospedeira, visto que o período de desenvolvimento dos ovos parasitados de *T. remus* criado em ovos de *C. cephalonica* foi maior em relação ao obtido por *T. remus* provenientes de ovos de *S. frugiperda*. Porém, os resultados observados apresentaram diferença de apenas 36 h. Ainda, os períodos de desenvolvimento verificados foram semelhantes aos relatados por outros autores utilizando ovos de *S. frugiperda* como hospedeiro (Bueno et al., 2008; Pomari et al., 2012).

A importância da razão sexual em programas de controle biológico já foi discutida anteriormente e novamente não houve influência para esta característica. Assim, o maior número de fêmeas ao longo das gerações suporta a hipótese de que o hospedeiro alternativo não influenciou negativamente o desenvolvimento de fêmeas de *T. remus*.

A longevidade das fêmeas parentais, como descrito anteriormente, esta correlacionada ao maior gasto energético durante o parasitismo (Almeida, 2004). Porém, os resultados apresentados são contrários a esta afirmação, devendo-se levar em conta que a energia metabólica disponível pode ser alterada ao longo das gerações do parasitoide criado em ovos do hospedeiro alternativo, explicando assim as diferenças observadas.

Os resultados obtidos com *T. remus* em ovos de *C. cephalonica* foram satisfatórios, visto que o parasitoide criado por sucessivas gerações em ovos desse hospedeiro alternativo não perdeu a capacidade de parasitar ovos do hospedeiro natural. É importante relatar que, embora seja verificada diminuição no número de ovos parasitados, os parâmetros viabilidade e razão sexual não foram afetados. Ainda, salienta-se que é importante avaliar os parâmetros biológicos deste parasitoide proveniente de ovos do hospedeiro alternativo parasitando por duas gerações consecutivas, ovos do hospedeiro natural. Dessa forma, caso seja verificado incremento nestes parâmetros, esta estratégia poderá ser utilizada em criações massais,

visando assegurar a qualidade dos indivíduos. Este método foi empregado por Gautum (1986) utilizando ovos de *Agrotis spinifera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae), como um hospedeiro alternativo por uma geração/ano, para aumentar a eficácia de *T. remus*, visto que os adultos criados nestes ovos foram maiores, mais longevos e mais férteis do que aqueles obtidos em ovos de *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae).

Por fim, na capacidade de parasitismo de *T. remus* o número de ovos parasitados de *C. cephalonica* aumentou ao longo das gerações, como o esperado em função dos resultados obtidos no primeiro experimento. Adicionalmente, a semelhança verificada entre o número total de ovos parasitados de *S. frugiperda* e *C. cephalonica* (geração F19) indica que o parasitoide proveniente do hospedeiro alternativo sofre uma diminuição na sua capacidade de parasitismo diária, mas não no parasitismo total. Esses resultados corroboram aqueles discutidos nos experimentos anteriores e com Kumar et al. (1986), onde *T. remus* foi criado por 75 gerações em ovos de *C. cephalonica*. Os autores afirmaram que nas primeiras gerações, ofertando-se 5 ovos/fêmea, o parasitismo foi baixo (<30%) mas, a partir da geração F5, atingiu até 90%.

A porcentagem de emergência, embora menor em ovos de *C. cephalonica* apresentou valores satisfatórios para a criação do parasitoide em ovos do hospedeiro alternativo, visto que para criações massais são necessárias viabilidades superiores a 75% (Parra et al., 2002). A razão sexual foi semelhante à obtida nos experimentos anteriores, apresentando maior número de fêmeas.

Com relação à longevidade das fêmeas parentais, parâmetro correlacionado ao maior gasto energético realizado pela fêmea durante o parasitismo, mesmo as fêmeas criadas por 19 gerações em ovos de *C. cephalonica* foram mais longevas que aquelas criadas em ovos de *S. frugiperda*, ambas com parasitismo semelhante. Assim, vale discutir a hipótese de que o parasitismo no hospedeiro natural foi realizado em camadas sobrepostas, enquanto que os

ovos do hospedeiro alternativo foram fixados nas cartelas em uma única camada, o que provocaria maior gasto energético para parasitismo em ovos de *S. frugiperda*.

Em geral, os resultados obtidos com as gerações F13 e F19 foram semelhantes àqueles encontrados com ovos do hospedeiro natural, demonstrando a viabilidade da utilização de *C. cephalonica* como hospedeiro alternativo na criação de *T. remus*, o que confirma a hipótese de que, ao longo das gerações existe adaptação do parasitoide ao ovo do hospedeiro alternativo, como verificado por Kumar et al. (1986), com *T. remus* apresentando desenvolvimento estável em ovos de *C. cephalonica* a partir da geração F7.

3.5. CONCLUSÃO

Telenomus remus apresenta condicionamento pré-imaginal em relação ao hospedeiro natural, porém, ao longo das gerações no hospedeiro alternativo (a partir de F8) seu desenvolvimento em ovos de *C. cephalonica* é semelhante àquele em ovos de *S. frugiperda*, indicando que *C. cephalonica* é hospedeiro alternativo eficiente para criações massais de *T. remus*.

3.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, R.P. ***Trichogramma* and its relationship with Wolbachia: identification of *Trichogramma* species, phylogeny, transfer and costs of *Wolbachia* symbionts.** 142 f. 2004. Tese de doutorado, Wageningen University, The Netherlands. 2004.

BUENO, R.C.O.F.; CARNEIRO, T.R.; PRATISSOLI, D.; BUENO, A.F.; FERNANDES, O.A. Biology and thermal requirements of *Telenomus remus* reared on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* eggs. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, p.1-6, 2008.

BURR, I.W.; FOSTER, L.A. **A test for equality of variances.** West Lafayette: University of Purdue. 26p. 1972.

CAVE, R.D. Biology, ecology and use in pest management of *Telenomus remus*. **Biocontrol**, Dordrecht, v.21, n.1, p. 21-26, 2000.

COBERT, S.A. Insect chemosensory responses: a chemical legacy hypothesis. **Ecological Entomology**, London, v. 10, p. 143-153, 1985.

GAUTUM, R.D.; GUPTA, T. Mass-multiplication of the cutworm, *Agrotis spinifera* (Hubner). **Annals of Agricultural Research**, New Delhi, v.15, p.64-69, 1994.

GRENIER, S. Rearing of *Trichogramma* and other egg parasitoids on artificial diets. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S.A. (Ed.). **Biological control with egg parasitoid**. Wallingford: CAB International, 1994. p. 73-92.

HERARD, F.H.; KELLER, M.A.; LEWIS, W.J.; TUMLINSON, J.H. Beneficial arthropod behavior mediated by airborne semiochemicals. **Journal of Chemical Entomology**, New York, v. 14, p. 1597-1606, 1988.

KUMAR, D.A.; PAWAR, A.D; DIVAKAR, B.J. Mass multiplication of *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) on *Corcyra cephalonica* Stainton (Lepidoptera: Galleridae). **Journal of Advanced Zoology**, Gorakhpur, v. 7, p. 21-23, 1986.

NAVARRO, M.A. *Trichogramma* spp. **procucción, uso y manejo em Colombia**. Guadalajara de Buga: Impretec, 1998. 176p.

NURINDAH, G.G.; CRIBB, B.W.; GORDH, G. Effects of physiological condition and experience on oviposition behaviour of *Trichogramma australicum* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on eggs of *Helicoverpa armigera* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae). **Australian Journal of Entomology**, v. 38, n. 2, p. 104–114, 1999.

PARRA, J.R.P. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Eds.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: Fealq, p.121-150, 1997.

PARRA, J.R.P.; BOTELHO, S.M.; CÔRREA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. **Controle Biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole. 609p. 2002.

POMARI, A.F.; BUENO, A.F.; BUENO, R.C.O.F.; MENEZES JUNIOR, A.O. Biological characteristics and thermal requirements of the biological control agent *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) reared on eggs of different species of the genus *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of Entomological Society of America**, Knoxville, v. 105, n.1, p.72-81, 2012.

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

SAS Institute. **SAS user's guide: statistics**, version 8e. Cary, NC: SAS Institute (2001), 2001.

SHAPIRO, S.S.; WILKS, M.B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, London, v.52, p.591-611, 1965.

STEIN, C.P.; PARRA, J.R.P. Uso da radiação ultra-violeta para inviabilizar ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) visando estudos com *Trichogramma*. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 16, p. 229-234, 1987.

UENO, T. Host-size-dependent sex ratio in a parasitoid wasp. **Research of Populations Ecology**, v. 41, p. 47–57, 1999.

VET, L.E.M.; GROENEWOLD, A.W. Semiochemicals and learning in parasitoids. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 16, p. 3119-3135, 1990.

VINSON, S.B. The general host selection behavior of parasitoid Hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. **Biological Control**, Orlando, v. 11, p. 79-96, 1998.

WEST, S.A.; FLANAGAN, K.E.; GODFRAY, H.C.J. The relationship between parasitoid size and fitness in the field, a study of *Achrysocharoides zwoelferi* (Hymenoptera: Eulophidae). **Journal of Animal Ecology**, Oxford, v. 65, p. 631–639, 1996.

CAPÍTULO 4:

Importância da umidade relativa para as características biológicas de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) em ovos de *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) e *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)

4.1. INTRODUÇÃO

Existem agentes de controle biológico que são criados em hospedeiros naturais, muitas vezes de maneira onerosa, o que pode inviabilizar financeiramente sua utilização no campo. Por outro lado, existem também os inimigos naturais que podem ser produzidos em hospedeiros alternativos ou de substituição, o que muitas vezes reduz o custo de produção, além de poder aumentar a sua eficiência em larga escala. Nesses casos, o parasitoide é criado em hospedeiros não preferenciais, mas que são adequados o suficiente para promover bom desenvolvimento dos mesmos (Parra, 1997).

Telenomus remus Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) é um parasitoide de ovos de lepidópteros, muitos dos quais pragas de culturas na Ásia e nas Américas. Esse parasitoide apresenta elevada taxa reprodutiva e é facilmente criado em larga escala o que o torna um bom agente de controle biológico de lepidópteros-praga, particularmente aqueles do gênero *Spodoptera* (Cave, 2000).

No Brasil, esta espécie é criada apenas para fins experimentais, sendo utilizado como hospedeiro *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). A criação do parasitoide no hospedeiro natural pode, muitas vezes, inviabilizar a produção por ser muito trabalhosa e exigente em mão-de-obra. O desenvolvimento do parasitoide *T. remus* em ovos de *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) foi relatado por Cave (2000), citando que os fatores abióticos mais importantes no parasitismo e desenvolvimento da espécie são a temperatura e a umidade relativa.

A temperatura já foi estudada por Pomari et al. (2012) em ovos de quatro espécies do gênero *Spodoptera*, salientando-se que estudos sobre a umidade relativa adequada para o desenvolvimento deste parasitoide são escassos. Nesse contexto, o objetivo desta pesquisa foi avaliar o parasitismo e desenvolvimento de *T. remus* em ovos de *C. cephalonica*, comparativamente ao seu hospedeiro natural *S. frugiperda*, em diferentes gradientes de umidade relativa.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. Características biológicas de *Telenomus remus* em ovos de *Corcyra cephalonica* e *Spodoptera frugiperda* em diferentes umidades relativas

O experimento foi conduzido em câmaras climatizadas do tipo BOD com temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 14 horas, com delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x2 (três umidades relativas e duas espécies de hospedeiros) e 4 repetições. As repetições foram compostas por 5 fêmeas adultas mantidas individualmente em tubos do tipo Duran (6 cm x 1 cm), contendo uma gotícula de mel como alimento. Os percentuais de umidade avaliados foram: 40, 60 e $80\pm 10\%$. Ambos os hospedeiros, *C. cephalonica* e *S. frugiperda*, e o parasitoide *T. remus* utilizados nos experimentos, foram provenientes da criação descrita no item 1.2.4. Os parasitoides foram criados em ovos de *C. cephalonica* (F5) e *S. frugiperda* e submetidos ao parasitismo em seus hospedeiros de criação.

Para condução do ensaio, aproximadamente 100 ovos de cada hospedeiro foram colados em cartelas de cartolina branca (0,8 cm x 6,0 cm). Os ovos de *C. cephalonica* foram inviabilizados em câmara com luz ultravioleta. As cartelas foram individualizadas e colocadas nos tubos contendo uma fêmea recém-emergida (até 24h), sendo os tubos fechados com filme plástico PVC e o parasitismo permitido por 24 horas. Após o período de parasitismo, as cartelas foram retiradas e colocadas em tubos tipo Duran vedados com filme plástico PVC, mantidos nas mesmas condições em que ocorreu o parasitismo, até a emergência dos adultos.

Os parâmetros biológicos avaliados foram: número de ovos parasitados; duração do período ovo-adulto, porcentagem de emergência (viabilidade) e razão sexual. Para determinação da duração do período ovo-adulto foram realizadas observações diárias da emergência. Os resultados obtidos foram submetidos à análise exploratória para avaliar as pressuposições de normalidade dos resíduos, homogeneidade de variância dos tratamentos e aditividade do modelo para permitir a aplicação da ANOVA (Burr & Foster, 1972; Shapiro &

Wilks, 1965). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro (SAS Institute, 2001).

4.2.2. Capacidade de parasitismo de *Telenomus remus* em ovos de *Corcyra cephalonica* e *Spodoptera frugiperda* expostos a diferentes umidades relativas.

O experimento foi conduzido em câmaras climatizadas do tipo BOD com temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 14 horas, em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3×2 (três umidades relativas e duas espécies de hospedeiros) e 4 repetições (composta por 5 fêmeas individualizadas em tubos tipo Duran e alimentadas com mel). A metodologia empregada neste experimento foi a mesma descrita no item anterior, porém, o parasitismo foi avaliado diariamente até a morte das fêmeas, trocando-se as cartelas contendo ovos dos hospedeiros a cada 24 horas. As cartelas contendo ovos parasitados foram acondicionadas em tubos tipo Duran e mantidas nas mesmas condições do parasitismo, em câmara climatizada até a emergência dos adultos.

Os parâmetros avaliados foram: porcentagem diária de parasitismo, porcentagem acumulada de parasitismo, número total de ovos parasitados por fêmea e longevidade das fêmeas parentais. O número total de ovos parasitados e a longevidade das fêmeas foram submetidos à análise exploratória para avaliar as pressuposições de normalidade dos resíduos, homogeneidade de variância dos tratamentos e aditividade do modelo para permitir a aplicação da ANOVA (Burr & Foster, 1972; Shapiro & Wilks, 1965). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (SAS Institute, 2001).

4.3. RESULTADOS

4.3.1. Características biológicas de *Telenomus remus* em ovos de *Corcyra cephalonica* e *Spodoptera frugiperda* em diferentes umidades relativas.

O número de ovos parasitados (Média $\pm$ EP) ($F_{9, 20} = 35,98$, $P < 0,0001$) por fêmea de

T. remus foi maior para *S. frugiperda*, em relação à *C. cephalonica* em todos os tratamentos. A umidade relativa (%) interferiu diretamente no parasitismo apenas em ovos do hospedeiro alternativo, apresentando maior porcentagem de parasitismo quando expostos a 80% de umidade. Diferentemente, no hospedeiro natural, não foi verificada influência dos níveis de umidade relativa (Tabela 12).

Tabela 12. Número de ovos de *Corcyra cephalonica* e *Spodoptera frugiperda* parasitados por *Telenomus remus* em 24 h em diferentes umidades relativas. T=25±2°C; Fotofase de 14 h.

Hospedeiro	UR = 40% ¹	UR = 60% ¹	UR=80% ¹
<i>Corcyra cephalonica</i>	15,88 ± 2,38 bAB	9,50 ± 0,97 bB	28,40 ± 1,69 bA
<i>Spodoptera frugiperda</i>	82,67 ± 4,59 aA	80,81 ± 5,42 aA	72,72 ± 6,90 aA
CV (%)	19,67		

¹Médias ± EPM seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si (Teste de Tukey, P≤0,05).

A porcentagem de emergência foi superior ($F_{9, 20} = 14,50$, $P < 0,0001$) quando *T. remus* parasitou ovos de *S. frugiperda*. Para esse hospedeiro não foi verificada influência da umidade nesse parâmetro biológico. Por outro lado influenciou o número de adultos emergidos em *C. cephalonica*, sendo o maior índice (76,84%) verificado a 80% de umidade (Tabela 13).

Tabela 13. Viabilidade do parasitismo de *Corcyra cephalonica* e *Spodoptera frugiperda* parasitados por *Telenomus remus* em diferentes umidades relativas. T=25±2°C; Fotofase =14 h.

Hospedeiro	UR = 40% ¹	UR = 60% ¹	UR=80% ¹
<i>Corcyra cephalonica</i>	52,14 ± 2,54 bC	63,85 ± 2,08 bB	76,84 ± 3,49 bA
<i>Spodoptera frugiperda</i>	90,18 ± 1,66 aA	89,33 ± 3,39 aA	86,18 ± 3,69 aA
CV (%)	8,93		

¹Médias ± EPM seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si (Teste de Tukey, P≤0,05).

A razão sexual diferiu ($F_{9, 20} = 2,76$, $P = 0,0281$) apenas entre os hospedeiros e na umidade de 80%, sendo o maior número de fêmeas obtidas em ovos de *C. cephalonica*

(0,85). Por outro lado, o valor encontrado para *S. frugiperda*, mesmo inferior ao do hospedeiro alternativo, apresentou valores acima de 60% de fêmeas (Tabela 14).

Tabela 14. Razão sexual de *Telenomus remus* provenientes de ovos de *Corcyra cephalonica* e *Spodoptera frugiperda* parasitados em diferentes umidades. T=25±2°C; Fotofase =14 h.

Hospedeiro	UR = 40% ¹	UR = 60% ¹	UR=80% ¹
<i>Corcyra cephalonica</i>	0,75 ± 0,05 aA	0,73 ± 0,06 aA	0,85 ± 0,01 aA
<i>Spodoptera frugiperda</i>	0,73 ± 0,04 aA	0,68 ± 0,03 aA	0,61 ± 0,02 bA
CV (%)	12,87		

¹Médias ± EPM seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si (Teste de Tukey, P≤0,05).

Com relação ao período ovo-adulto, não foi verificado interação para os fatores umidade e hospedeiro. Assim, não houve influência da umidade no desenvolvimento de *T. remus*, sendo a média do período ovo-adulto de 12,5 dias (Figura 6A). Este parâmetro biológico foi influenciado pelos hospedeiros, sendo necessário um período maior de desenvolvimento para *T. remus* em ovos de *C. cephalonica* (Figura 6B).

Figura 6. A) Período ovo-adulto (Média $\pm$ EP) de *Telenomus remus* em diferentes percentuais de umidade relativa. ^{ns}ANOVA não significativa. **B)** Período ovo-adulto (Média $\pm$ EP) de *Corcyra cephalonica* e *Spodoptera frugiperda* por *T. remus*. Tratamentos seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

4.3.2. Capacidade de parasitismo de *Telenomus remus* em ovos de *Corcyra cephalonica* expostos a diferentes umidades relativas

A longevidade das fêmeas parentais diferiu ($F_{9, 20} = 18,78$, $P < 0,0001$) entre os hospedeiros apenas nas umidades de 60% e 80%. Fêmeas que parasitaram ovos de *C. cephalonica* foram mais longevas. Com relação a umidade, houve influência apenas a 40% e em ovos do hospedeiro alternativo, que diminuiu a longevidade das fêmeas (Tabela 14).

Tabela 14. Longevidade das fêmeas de *Telenomus remus* parasitando ovos de *Corcyra cephalonica* e *Spodoptera frugiperda* em diferentes umidades. $T = 25 \pm 2^\circ\text{C}$; Fotofase = 14h.

Hospedeiro	UR = 40 $\pm$ 10% ¹	UR = 60 $\pm$ 10% ¹	UR=80 $\pm$ 10% ¹
<i>Corcyra cephalonica</i>	7,90 $\pm$ 0,26 aB	12,96 $\pm$ 1,26 aA	15,24 $\pm$ 0,69 aA
<i>Spodoptera frugiperda</i>	7,10 $\pm$ 0,54 aA	6,45 $\pm$ 0,46 bA	7,65 $\pm$ 0,55 bA
CV (%)	15,01		

¹Médias $\pm$ EPM seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si (Teste de Tukey, $P \leq 0,05$).

Não houve interação para o número de ovos parasitados e os percentuais de umidade. A média do número de ovos parasitados nos dois hospedeiros não apresentou diferença significativa entre as umidades relativas testadas, sendo obtida uma média de 85 ovos parasitados (Figura 7A). Por outro lado, os hospedeiros apresentaram diferença para este parâmetro, sendo o maior número de ovos parasitados em *S. frugiperda* (Figura 7B).

Figura 7. A) Número de ovos parasitados (Média ± EP) por *Telenomus remus* em diferentes percentuais de umidade relativa. ^{ns}ANOVA não significativa. **B)** Número de ovos parasitados (Média ± EP) de *Corcyra cephalonica* e *Spodoptera frugiperda* por *T. remus*. Tratamentos seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

O parasitismo diário diminuiu ao longo da vida das fêmeas, em todos os tratamentos e hospedeiros, mostrando tendência a diminuir ao longo do tempo (Figura 8). Para *C. cephalonica*, o maior parasitismo diário ocorreu nas primeiras 24 horas quando expostos a umidade de 40 e 80±10% e nas 120h para 60±10%, sendo o número médio de ovos parasitados de 6,04; 9,08 e 3,88 ovos, respectivamente. As fêmeas de *T. remus* atingiram parasitismo de 80% aos 6, 5 e 9 dias para os três percentuais de umidade, respectivamente (Figuras 8A, 8B e 8C).

Para *S. frugiperda*, o maior parasitismo ocorreu nas primeiras 24 horas em todas as umidades (40, 60 e 80%), sendo os números médios de ovos parasitados de 64,65; 64,55 e 63,00, respectivamente. As fêmeas de *T. remus* atingiram parasitismo de 80% no terceiro dia de avaliação nas 3 umidades (Figuras 8D, 8E e 8F).

Figura 8. Parasitismo diário e acumulado de *Telenomus remus* em ovos de *Corcyra cephalonica* (A) UR: 40±10%, (B) UR: 60±10%, (C) UR: 80±10% e *Spodoptera frugiperda* (D) UR: 40±10%, (E) UR: 60±10%, (F) UR: 80±10% . T: 25±2°C e fotofase de 12 h. As setas indicam 80% de parasitismo.

4.4. DISCUSSÃO

A temperatura e a umidade relativa (%) são os fatores abióticos mais importantes para o desenvolvimento e, conseqüentemente, para a criação e multiplicação de *T. remus* (Cave, 2000). A influência da temperatura no parasitismo e na viabilidade desse parasitoide em ovos de espécies do gênero *Spodoptera* já foi bastante estudada (Bueno et al., 2008; Pomari et al., 2012), com o objetivo de obter dados que possibilitem sua criação e liberação em campo. Porém, a influência da umidade relativa (%) no desenvolvimento e criação do parasitoide em laboratório ainda é desconhecida, principalmente considerando hospedeiros alternativos como *C. cephalonica*. Na literatura podem ser encontrados resultados sobre o efeito da umidade no parasitismo de *T. remus* em ovos de *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae), com parasitismo superior a 90% quando a umidade relativa situava-se entre 50-75% (Gupta & Pawar, 1985). Gautum (1986) obteve o maior parasitismo com 75% de umidade relativa utilizando *Agrotis spinifera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) como hospedeiro. Ainda, para *Telenomus isis* Polaszek parasitando ovos das brocas-do-caule, *Sesamia calamistis* Hampson (Lepidoptera: Noctuidae), *Sesamia nonagrioides* (Lefebvre) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Busseola fusca* (Fuller) (Lepidoptera: Noctuidae), foram verificadas taxa de parasitismo e viabilidade superiores quando a umidade estava entre 70-80%, em relação a 40-50% (Bruce et al., 2009). Estes resultados são corroborados pelo parasitismo encontrado no presente trabalho para ovos de *C. cephalonica*, mas não para aqueles em *S. frugiperda*, visto que as umidades de 40 a 80% não influenciaram o parasitismo, nem o desenvolvimento de *T. remus* no hospedeiro natural. Tal fato pode estar relacionado a este hospedeiro apresentar ovos maiores, com maior umidade, o que permite o desenvolvimento sem necessidade de incrementar a umidade do ambiente.

Diferentemente ao que foi observado para *T. remus* parasitando ovos de *S. frugiperda*, a umidade relativa exerceu influência sobre diversos parâmetros biológicos do parasitoide em ovos de *C. cephalonica*. Esta influência ainda não havia sido relatada na interação destas

duas espécies, havendo na literatura relato de que a umidade relativa de 70% era utilizada para criação de *T. remus* em ovos deste hospedeiro alternativo, sem maiores detalhamentos das razões da escolha desse valor (Kumar et al., 1986). Assim, a influência das baixas umidades no número de ovos parasitados, porcentagem de emergência e longevidade das fêmeas parentais em relação a utilização de *C. cephalonica*, indica que *T. remus* necessita de um incremento hídrico do ambiente para otimizar o parasitismo e o desenvolvimento.

Resultados semelhantes foram relatados para outras espécies de parasitoides, avaliando-se a influência da umidade relativa no parasitismo e sua viabilidade (Kalyeb et al., 2006; Bruce et al., 2009; Yuan et al., 2012). Com ovos de *C. cephalonica*, alguns autores verificaram que 4 espécies de trichogramatídeos foram capazes de se desenvolver a 35°C com umidade entre 70-80%, mas, o mesmo não ocorreu entre 40-50% (Kalyeb et al., 2006). De forma semelhante, Duale (2005) verificou que a umidade entre 60 e 80% é ótima para oviposição e desenvolvimento de *Pediobius furvus* (Gahan) (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Chilo partellus* (Swinhoe) (Lepidoptera: Pyralidae). Mainali et al. (2012) avaliaram os efeitos da umidade em dois parasitoides de ovos, *Gryon japonico* (Aschmead) (Hymenoptera: Platygasteridae) e *Ooencyrtus nezarae* Ishii (Hymenoptera: Encyrtidae), verificando a condição ótima de reprodução entre 50-75% de umidade relativa. Ainda, Yuan et al. (2012), avaliando 4 espécies do gênero *Trichogramma*, determinaram que o maior número de ovos parasitados foi encontrado com 70% de umidade. Estes dados ratificam àqueles obtidos em ovos de *S. frugiperda* neste trabalho, uma vez que o parasitismo foi semelhante entre as umidades de 40 a 80%. Aqueles autores fazem alusão ainda, de acordo com cada parasitoide, da dependência de umidade elevada para um melhor desempenho de reprodução e desenvolvimento, como verificado para *C. cephalonica* neste trabalho, onde foi necessário umidade relativa igual a 80% para a obtenção de maior parasitismo.

Esta diferença do efeito da umidade no parasitismo em relação aos dois hospedeiros permite discutir as diferenças fisiológicas entre eles, demonstrando possivelmente que, o

hospedeiro alternativo, por ser uma traça de grãos armazenados e se desenvolver em ambiente de baixa umidade (<15%) (Gallo et al., 2002), apresenta baixo teor hídrico em seus ovos, sendo necessário um incremento do mesmo no ambiente para o desenvolvimento do parasitoide. Ainda, características como volume do hospedeiro, espessura do córion, conteúdo nutricional, idade e forma de postura dos hospedeiros podem afetar a qualidade dos parasitoides, bem como a porcentagem de parasitismo e razão sexual (Hoffman et al., 2001; Roriz et al., 2006; Rukmowati-Brotodjojo & Walter, 2006). Assim, pode-se inferir que traças de grãos armazenados, como *C. cephalonica*, apresentam o córion mais espesso a fim de evitar o ressecamento, uma vez que desenvolvem-se em ambientes com baixa umidade, sendo que a elevação deste fator abiótico pode facilitar o parasitismo e o desenvolvimento de *T. remus*. Neste contexto, alguns autores relatam que entre os fatores do hospedeiro que podem interferir no parasitismo de *Trichogramma minnutum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), também parasitoide de ovos, estão a área superficial do ovo e a espessura do córion (Schmidt & Smith, 1987).

A razão sexual é um parâmetro biológico importante quando se visa criações massais para utilização em programas de controle biológico aplicado. Isto se deve a dois motivos, primeiro porque o maior número de fêmeas é desejável, pois são elas as responsáveis pela supressão direta das pragas-alvo (Bueno et al., 2008) e, segundo, porque a relação entre o número de machos e fêmeas, quando semelhante àquele encontrado na natureza, garante o controle de qualidade dos insetos que serão utilizados (van Lenteren, 2003). Assim, os resultados obtidos para os dois hospedeiros foram semelhantes e favoráveis para a criação do parasitoide visando liberação em campo, pois apresentaram maior número de fêmeas. Entretanto, é importante salientar que a razão sexual dos descendentes de *T. remus* pode ser afetada também pela idade das fêmeas, uma vez que ovos de *Spodoptera* parasitados por fêmeas com 2 a 3 dias de vida apresentam proporção sexual de normalmente 60-70% de fêmeas, mas pode diminuir a 22% com fêmeas de idade mais avançada (Schwartz & Gerling,

1974). Outro fator que interfere na proporção de machos e fêmeas é a quantidade disponível de ovos do hospedeiro, pois fêmeas de *T. remus* produzem mais machos quando a quantidade de parasitoide é muito maior que a quantidade de hospedeiro (van Welzen & Waage, 1987).

O desenvolvimento (período ovo-adulto) é um parâmetro biológico dependente de diferentes fatores bióticos e abióticos (Pomariet al., 2012). No que se refere ao hospedeiro, a disponibilidade nutricional age diretamente neste parâmetro, determinando a necessidade de um maior ou menor período de desenvolvimento. Sendo assim, maior período ovo-adulto de *T. remus* em ovos de *C. cephalonica*, quando comparado a *S. frugiperda*, indica que os ovos deste hospedeiro alternativo são nutricionalmente inferiores aos do hospedeiro natural, resultando no prolongamento do período de desenvolvimento. Analogamente a esta discussão, alguns autores relataram que as características intrínsecas do ovo, como a qualidade nutricional, podem ser o fator chave no processo de aceitação e desenvolvimento do hospedeiro (Shippert al., 1998; Pratisoli & Parra, 2001).

A longevidade das fêmeas parentais está correlacionada ao gasto energético necessário para que ocorra o parasitismo (Almeida, 2004). Assim, o menor número de ovos parasitados de *C. cephalonica*, aliado ao fato da postura desta espécie ser ofertada em uma única camada, diferentemente de *S. frugiperda*, pode ter levado a um gasto metabólico menor, aumentando a longevidade das fêmeas. Nesse sentido, alguns autores relataram que, para *T. pretiosum* esta variabilidade está relacionada à quantidade e qualidade do conteúdo do hospedeiro, requerida em função das características genéticas, fenológicas e fisiológicas (Lewis & Martin, 1990; Gomes, 1997). Ainda, como citado anteriormente para outras espécies de parasitoides de ovos, como *T. atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae), foi verificado que o maior gasto energético das fêmeas se concentra no parasitismo, primeiramente com a introdução do ovipositor e com a oviposição, seguido da avaliação do hospedeiro pelo contato com as antenas e caminhar durante a avaliação do mesmo (Almeida, 2004). Além destes fatores, deve-se levar em consideração que as fêmeas

de *T. remus* apresentam o número máximo de ovos em seus ovários entre 2-3 dias de idade (van Welzen & Waage, 1987) e produzem mais de 76% de sua progênie durante os primeiros 5 dias de vida adulta (Schwartz & Gerling, 1974). Deste modo, como verificado nos experimentos de capacidade de parasitismo, as fêmeas atingiram 80% de ovos parasitados nos primeiros 5 dias de vida, assim, a longevidade das fêmeas parentais, embora importante, não é um fator determinante entre os hospedeiros, visto que, em ambos os hospedeiros viveram mais que 5 dias.

Com relação à capacidade de parasitismo, o número total de ovos parasitados de *S. frugiperda* por fêmea de *T. remus* foi semelhante àqueles obtidos por Pomari et al. (2013), em todas as unidades relativas testadas. Por outro lado, houve diferença neste parâmetro em relação aos dois hospedeiros, sendo o menor com *C. cephalonica*. Este resultado pode estar diretamente relacionado ao condicionamento pré-imaginal, o que, segundo Cobert (1985), pode ocorrer quando um parasitoide é criado por sucessivas gerações em um determinado hospedeiro. Ainda, é importante salientar que esta afirmação também é suportada pelos resultados relatados e discutidos no capítulo 3.

4.5. CONCLUSÃO

Corcyra cephalonica pode ser utilizada como hospedeiro alternativo para *T. remus*, porém a umidade relativa deve ser considerada como fator determinante para o sucesso da criação, devendo ser mantida em valores igual ou superior a 80%.

4.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, R.P. *Trichogramma and its relationship with Wolbachia: identification of Trichogramma species, phylogeny, transfer and costs of Wolbachia symbionts*. 142 f. 2004. Tese de doutorado, Wageningen University, The Netherlands. 2004.

BRUCE, A.; SCHULTHESS, F.; MUEKE, J. Host acceptance, suitability, and effects of host deprivation on the West african egg parasitoid *Telenomus isis* (Hymenoptera: Scelionidae)

reared on east African stemborers under varying temperature and relative humidity regimens. **Environmental Entomology**, College Park, v. 38, n. 3, p. 904-919, 2009.

BUENO, R.C.O.F.; CARNEIRO, T.R.; PRATISSOLI, D.; BUENO, A.F.; FERNANDES, O.A. Biology and thermal requirements of *Telenomus remus* reared on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* eggs. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, p.1-6, 2008.

BURR, I.W.; FOSTER, L.A. **A test for equality of variances**. West Lafayette: University of Purdue, 1972. 26p.

CAVE, R.D. Biology, ecology and use in pest management of *Telenomus remus*. **Biocontrol**, Dordrecht, v.21, n.1, p. 21-26, 2000.

COBERT, S.A. Insect chemosensory responses: a chemical legacy hypothesis. **Ecological Entomology**, London, v. 10, p. 143-153, 1985.

DUALE, A.H. Effect of temperature and relative humidity on the biology of the stem borer parasitoid *Pediobius fuscus* (Gahan) (Hymenoptera: Eulophidae) for the management of stem borers. **Environmental Entomology**, College Park, v. 34, n. 1, p. 1-5, 2005.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BATISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 920p. 2002.

GAUTUM, R.D. Influence of different noctuid hosts on the parasitisation by *Telenomus remus* Nixon (Scelionidae: Hymenoptera). **Journal of Entomological Research**, New Delhi, v. 10, p. 70-73, 1986.

GOMES, S.M. **Comparação de três hospedeiros alternativos para criação e produção massal de *Trichogramma pretiosum* e *T. galloi***. 106 f. 1997. Dissertação de mestrado, ESALQ: Piracicaba. 1997.

GUPTA, M.; PAWAR, A.D. Multiplication of *Telenomus remus* Nixon on *Spodoptera litura* (Fabricius) reared on artificial diet. **Journal of Advanced Zoology**, Gorakhpur, v.6, p.13-17, 1985.

HOFFMANN, M.P.; ODE, P.R.; WALKER, D.L.; GARDNER, J.; van NOUHUYS, S.; SHELTON, A.M. Performance of *Trichogramma ostrinae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared on factitious hosts, including the target host, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Biological Control**, Orlando, v. 21, p. 1-10, 2001.

KALYEBI, A.; SITHANANTHAM, S.; OVERHOLT, W.A.; HASSAN, S.A.; MUEKE, J.M. Parasitism, longevity and progeny production of six indigenous Kenyan trichogrammatid egg parasitoids (Hymenoptera: Trichogrammatidae) at different temperature and relative humidity regimes. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 15, p. 255-270, 2006.

KUMAR, D.A.; PAWAR, A.D.; DIVAKAR, B.J. Mass multiplication of *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) on *Corcyra cephalonica* Stainton (Lepidoptera: Galleridae). **Journal of Advanced Zoology**, Gorakhpur, v. 7, p. 21-23, 1986.

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

MAINALI, B.P.; KIM, S.; LIM, U.T. Interactive of temperature and relative humidity on egg parasitoids of *Riptortus pedestris* (Hemiptera: Alydidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 105, n. 5, p. 1524-1531, 2012.

PARRA, J.R.P. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Eds.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: Fealq, p.121-150, 1997.

POMARI, A.F.; BUENO, A.F.; BUENO, R.C.O.F.; MENEZES JUNIOR, A.O. Biological characteristics and thermal requirements of the biological control agent *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) reared on eggs of different species of the genus *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of Entomological Society of America**, Knoxville, v. 105, n.1, p.72-81, 2012.

POMARI, A.F.; BUENO, A.F.; BUENO, R.C.O.F.; MENEZES JUNIOR, A.O. *Telenomus remus* Nixon egg parasitization of three species of *Spodoptera* under different temperatures. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 42, p.399-406, 2013.

PRATISSOLI, D.; PARRA, J.R.P. Seleção de linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym.: Trichogrammatidae) para o controle das traças *Tuta absoluta* e *Phthorimaea operculella* (Lep.: Gelechiidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, p. 277-282, 2001.

RORIZ, V.; OLIVEIRA, L.; GARCIA, P. Host suitability and preference studies of *Trichogramma cordubensis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Biological Control**, Orlando, v. 36, p. 331-336, 2006.

RUKMOWATI-BROTODJOJO, R.R.; WALTER, G.H. Oviposition and reproductive performance of a generalist parasitoid (*Trichogramma pretiosum*) exposed to host species that differ in their physical characteristics. **Biological Control**, Orlando, v. 39, p. 300-312, 2006.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide: statistics**, version 8e. Cary, NC: SAS Institute (2001), 2001.

SCHMIDT, J.M.; SMITH, J.J.B. The measurement of exposed host volume by the parasitoid wasp *Trichogramma minutum* and effects of wasp size. **Canadian Journal of Zoology**, Ottawa, v. 65, p. 2837-2845, 1987.

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

SHAPIRO, S.S; WILK, M.B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, London, v.52, p.591-611, 1965.

SHIPP, J.L.; WANG, K.; FERGUSON, G. Evaluation of commercially produced *Trichogramma* spp. (Hym.: Trichogrammatidae) for control of tomato pinworm, *Keiferia lycopersicella* (Lep.: Gelechiidae), on greenhouse tomatoes. **Canadian Journal of Entomology**, Ottawa, v. 130, p.721-731, 1998.

van LENTEREN, J.C. **Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures**. Wallingford: CABI, 2003. 327 p.

van WELZEN, C.R.L.; WAAGE, J.K. Adaptative responses to local mate competition by the parasitoid, *Telenomus remus*. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, New York, v. 21, p. 359-365, 1987.

YUAN, X-H.; SONG, L-W.; ZHANG, J-J.; ZANG, L-S.; ZHU, L.; RUAN, C-C.; SUN G-Z. Performance of four Chinese *Trichogramma* species as biocontrol agents of the rice striped stem borer, *Chilo suppressalis*, under various temperature and humidity regimes. **Journal of Pest Science**, Heidelberg, v. 85, p. 497-504, 2012.

CAPÍTULO 5:

Controle de qualidade na produção de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) multiplicado em ovos do hospedeiro alternativo *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae)

5.1. INTRODUÇÃO

A produção de inimigos naturais em hospedeiros alternativos com capacidade de controlar pragas- alvo, semelhantes aos agentes de controle biológico encontrados na natureza, é uma das principais metas dos laboratórios de criação que atendem aos programas de controle biológico aplicado. Portanto, o controle de qualidade é um dos fatores determinantes para o sucesso dos programas, sendo a qualidade total do inimigo natural definida como sua capacidade de controlar a praga após a liberação em campo (Clarke & McKenzie, 1992).

Nesse contexto, no controle de qualidade da produção de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em laboratório, a Organização Internacional de Controle Biológico (IOBC Global Working Group: Quality Control of Mass Reared Arthropods) recomenda a avaliação de sete diferentes variáveis biológicas (van Lenteren, 2003). Entretanto, Prezotti (2001) observou que avaliar apenas as variáveis longevidade, parasitismo e atividade de voo é suficiente para manter o padrão de qualidade necessário na criação massal desses parasitoides de ovos. A capacidade de voar e caminhar são características importantes para o desempenho do inimigo natural em condições de campo, pois estão diretamente relacionadas com seu forrageamento e dispersão (Gardner & Lenteren, 1986), sendo que estes atributos podem se modificar ao longo do processo de multiplicação no laboratório, devendo ser monitorados. Para tanto, métodos que possam avaliar a capacidade de voar de diferentes parasitoides são meios importantes para detectar perdas na qualidade do inseto.

Outro fator a ser considerado é a morfologia do inseto, que pode ser influenciada por fatores relacionados às variações ambientais e do hospedeiro (Grenier et al., 2001), neste caso atuando possivelmente na diminuição do tamanho dos parasitoides. Assim, este estudo objetivou avaliar a atividade de voo e a morfometria do parasitoide de ovos *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae), provenientes de ovos do hospedeiro alternativo

Corcyra cephalonica (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae), por diferentes gerações, comparativamente aos insetos provenientes de ovos do hospedeiro natural *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), a fim de determinar a viabilidade de utilização do hospedeiro alternativo para criação massal de *T. remus*.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1. Morfometria de *Telenomus remus*

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com 10 tratamentos e 10 repetições, compostas por um indivíduo adulto mensurado individualmente. A criação dos parasitoides foi realizada conforme descrito no item 1.2 (Capítulo 1). Foram analisados 10 indivíduos fêmeas e 10 indivíduos machos de parasitoides provenientes de ovos de *C. cephalonica* em quatro diferentes gerações (F1, F8, F13 e F19) comparativamente aos parasitoides provenientes de *S. frugiperda*. Para cada exemplar foram realizadas as avaliações morfométricas do comprimento e largura da asa anterior direita, comprimento da tibia posterior direita e comprimento do corpo (cabeça até o final do abdômen) (Figura 9). Para a aferição dos caracteres morfométricos, primeiramente cada exemplar foi fotografado em um microscópio estereoscópico (Leica Application Suite – Version 1.6.0); após este procedimento, os caracteres dos exemplares foram medidos utilizando-se o programa Image J – Version 1.47.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise exploratória para avaliar as pressuposições de normalidade dos resíduos, homogeneidade de variância dos tratamentos e aditividade do modelo para permitir a aplicação da ANOVA (Burr & Foster, 1972; Shapiro & Wilks, 1965). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (SAS Institute, 2001).

Figura 9. Macho de *Telenomus remus* com os caracteres morfométricos avaliados sendo indicados pelas setas vermelhas: A) Comprimento da asa; B) Largura da asa; C) Comprimento da tíbia e D) Comprimento do corpo.

5.2.2. Teste de voo de *Telenomus remus*

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com 5 tratamentos (*T. remus* proveniente de ovos de *C. cephalonica* das gerações F1, F8, F13 e F19 e *T. remus* proveniente de ovos do hospedeiro natural *S. frugiperda*) e 10 repetições. Durante todo o experimento o ambiente foi mantido constantemente iluminado e em condições controladas de temperatura ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) e umidade ($70 \pm 10\%$). As repetições dos tratamentos foram distribuídas ao acaso sobre uma bancada de ferro, diretamente abaixo da fonte de luz (Figura 10).

Figura 10. Unidades-teste sobre bancada de ferro e abaixo da fonte de luz para teste de atividade de vôo de *Telenomus remus* (Foto: Alisson W. Sanzovo).

O modelo utilizado para o teste de voo, em cada repetição, foi aquele proposto por Dutton & Bigler (1995) e adaptado na ESALQ-USP (Prezottiet al., 2002), que consiste de um cilindro de PVC (18 cm de altura e 11 cm de diâmetro); o interior foi pintado com tinta acrílica preta sobre uma camada de tinta látex branca, para facilitar a fixação. O fundo do tubo foi vedado com um plástico flexível preto (tamanho maior que o diâmetro do tubo), ajustado firmemente por meio de um disco de isopor de aproximadamente um centímetro de espessura e com o mesmo diâmetro do tubo. As bordas do plástico, que após o encaixe, sobraram para o exterior do tubo, foram fixadas por meio de elásticos, o que permitiu perfeita vedação, evitando a fuga dos parasitoides. Em função da espessura do isopor, o anel de cola (composta por polibuteno e sílica sintética) utilizado como barreira ao caminhamento dos parasitoides foi pincelado a 3,5 cm da extremidade inferior do modelo, diretamente na parede interna. Uma placa de Petri transparente, pulverizada com a cola entomológica, foi colocada na parte superior do cilindro, servindo como armadilha para os parasitoides em voo ficarem aderidos (Figura 11).

Figura 11. Unidade-teste para avaliação da atividade de voo de *Telenomus remus* em laboratório: Modelo adaptado na ESALQ (Prezotti et al., 2002).

Em cada uma das repetições foram utilizadas, em média, 150 pupas de *T. remus* provenientes de ovos parasitados de *C. cephalonica* (gerações F1, F8, F13 e F19) ou 150 pupas do parasitoide provenientes de ovos de *S. frugiperda*. Essas pupas, sempre prestes à emergência, foram acondicionados no fundo do tubo sobre uma placa plástica de 2,5 cm de diâmetro e 1 cm de altura. As unidades-teste foram mantidas durante dois dias após o início da emergência dos parasitoides, posteriormente a esse período os insetos foram avaliados.

A posição e o número de parasitoides no anel de cola (“caminhadores”), na placa de Petri (“voadores”) e no fundo (“não voadores”) foram registrados e utilizados nos cálculos de porcentagens, em relação ao número total de adultos emergidos. Os parasitoides considerados “não voadores” foram observados em microscópio estereoscópico para determinar a porcentagem de indivíduos com deformações nas asas (Prezotti et al., 2002).

Os resultados obtidos foram submetidos à análise exploratória para avaliar as pressuposições de normalidade dos resíduos, homogeneidade de variância dos tratamentos e aditividade do modelo para permitir a aplicação da ANOVA (Burr & Foster, 1972; Shapiro &

Wilks, 1965). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro (SAS Institute, 2001).

5.3. RESULTADOS

5.3.1. Morfometria de *Telenomus remus*

Foram observadas diferenças em todos os caracteres morfológicos: comprimento da asa ($F_{9, 90} = 10,79$, $P < 0,0001$), largura da asa ($F_{9, 87} = 8,04$, $P < 0,0001$), comprimento total do corpo ($F_{9, 90} = 7,92$, $P < 0,0001$) e comprimento da tíbia ($F_{9, 89} = 14,51$, $P < 0,0001$). Machos, em geral, apresentaram medidas numericamente superiores às das fêmeas do mesmo hospedeiro e/ou geração avaliada, a exceção do comprimento do corpo. Para este parâmetro, as medidas observadas para machos foram numericamente inferiores aos valores das fêmeas, também considerando o mesmo hospedeiro e/ou geração (Tabela 15). Ainda, avaliando-se dentro do mesmo sexo, adultos de *T. remus* provenientes de ovos de *S. frugiperda* apresentaram maior comprimento e largura da asa quando comparados aos adultos provenientes de ovos de *C. cephalonica*. Não ocorreu diferença para os parâmetros de comprimento do corpo e tíbia (Tabela 15).

Tabela 15. Tamanho (mm) do parasitoide de ovos *Telenomus remus* quando criado em seu hospedeiro natural, *Spodoptera frugiperda* e em quatro gerações distintas de seu hospedeiro alternativo, *Corcyra cephalonica*.

Hospedeiro	Geração	Sexo	Caracteres morfológicos			
			Comprimento da asa ¹	Largura da asa ¹	Comprimento do corpo ¹	Comprimento da tíbia ¹
<i>S. frugiperda</i>	*	Fêmea	0,53 ± 0,01 ab	0,18 ± 0,01 ab	0,64 ± 0,02 a	0,14 ± 0,00 bcd
<i>S. frugiperda</i>	*	Macho	0,56 ± 0,01 a	0,18 ± 0,00 a	0,56 ± 0,01 bcd	0,17 ± 0,00 a
<i>C. cephalonica</i>	F1	Fêmea	0,47 ± 0,01 c	0,15 ± 0,00 c	0,58 ± 0,01 bcd	0,13 ± 0,00 de
<i>C. cephalonica</i>	F1	Macho	0,50 ± 0,01 bc	0,15 ± 0,00 c	0,53 ± 0,01 d	0,14 ± 0,00 bcd
<i>C. cephalonica</i>	F8	Fêmea	0,48 ± 0,01 c	0,15 ± 0,00 c	0,61 ± 0,01 ab	0,14 ± 0,00 bcd
<i>C. cephalonica</i>	F8	Macho	0,50 ± 0,01 bc	0,16 ± 0,00 bc	0,56 ± 0,01 bcd	0,15 ± 0,00 ab
<i>C. cephalonica</i>	F13	Fêmea	0,47 ± 0,00 c	0,15 ± 0,00 c	0,59 ± 0,02 abc	0,13 ± 0,00 e
<i>C. cephalonica</i>	F13	Macho	0,50 ± 0,01 bc	0,15 ± 0,00 c	0,54 ± 0,01 cd	0,14 ± 0,00 bcd
<i>C. cephalonica</i>	F19	Fêmea	0,47 ± 0,01 c	0,15 ± 0,00 c	0,60 ± 0,01 abc	0,13 ± 0,00 cde
<i>C. cephalonica</i>	F19	Macho	0,49 ± 0,01 c	0,15 ± 0,00 c	0,54 ± 0,01 cd	0,14 ± 0,00 bc
CV (%)			5,18	7,61	6,75	7,8

¹Médias ± EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente [Teste de Tukey, $P \leq 0,05$, $F(GL_{\text{modelo}}; GL_{\text{resíduo}})$]. **T. remus* criado em ovos de *S. frugiperda* por aproximadamente 250 gerações.

5.3.2. Teste de voo de *Telenomus remus*

A porcentagem média de *T. remus* provenientes de ovos de *S. frugiperda* e *C. cephalonica*, em quatro gerações, capturados natampa (“voadores”) não diferiu ($F_{4, 43} = 0,61$, $P = 0,6558$), sendo obtida média de 83% de indivíduos “voadores” (Tabela 16). Quanto aos parasitoides capturados nos anéis de cola (“caminhadores”), também não foi observada diferença ($F_{4, 43} = 0,64$, $P = 0,6394$) em nenhum dos tratamentos. Para os “caminhadores”, foi avaliado à possível deformidade nas asas e, em todos os tratamentos, não foi observada diferença ($F_{4, 45} = 0,31$, $P = 0,8694$), sendo a porcentagem de indivíduos deformados inferior a 1% (Tabela 16).

Tabela 16.Atividade de voo de *Telenomus remus* criado em ovos de *Spodoptera frugiperda* comparado a ovos de *Corcyra cephalonica* por diferentes gerações.

Hospedeiro	Geração	Voadores (%) ¹	Caminhadores (%) ¹	Deformados (%) ¹
<i>S. frugiperda</i>	*	80,89 ± 2,15 ^{ns}	18,62 ± 2,04 ^{ns}	0,02 ± 0,19 ^{ns}
<i>C. cephalonica</i>	F1	84,53 ± 1,23	15,01 ± 1,26	0,04 ± 0,21
<i>C. cephalonica</i>	F8	82,89 ± 1,41	16,86 ± 1,35	0,01 ± 0,13
<i>C. cephalonica</i>	F13	82,61 ± 2,02	16,87 ± 2,08	0,05 ± 0,22
<i>C. cephalonica</i>	F19	83,61 ± 1,69	15,80 ± 1,66	0,04 ± 0,17
CV (%)		6,52	32,04	19,86

¹Médias ± EPM. ^{ns}Diferença não significativa [Teste de Tukey, $P \leq 0,05$, $F(GL_{\text{modelo}}; GL_{\text{resíduo}})$]. **T. remus* criado em ovos de *S. frugiperda* por aproximadamente 220 gerações.

5.4. DISCUSSÃO

Os parâmetros morfométricos avaliados foram citados na literatura como bons indicadores da aptidão e fecundidade do parasitoide adulto oriundo dos mais diferentes hospedeiros e/ou gerações de laboratório. Há relatos de que para diferentes espécies de parasitoides de ovos do gênero *Trichogramma*, por exemplo, a morfologia pode ser influenciada por fatores relacionados às variações do hospedeiro (Marston & Ertle, 1973; Kazmer & Luck, 1991; Grenier et al., 2001). Portanto, determinar hospedeiros para criação massal que maximizem ou não altere os parâmetros morfométricos dos inimigos naturais é um elemento importante na estruturação e viabilização de programas de controle biológico aplicado ou manejo integrado de pragas (Vaz et al., 2004).

Sendo assim, o comprimento e largura das asas reduzidas observados para os parasitoides provenientes dos ovos de *C. cephalonica*, quando comparados aos adultos do mesmo sexo provenientes de ovos do hospedeiro natural *S. frugiperda*, poderia indicar uma menor capacidade de voo desses inimigos naturais produzidos no hospedeiro alternativo. Essa redução do tamanho das asas pode ser explicada pelas dimensões menores dos ovos de *C. cephalonica*. As dimensões do parasitoide estão diretamente ligadas ao tamanho do hospedeiro (Gautum, 1986). Nesse sentido, esse autor relata que adultos de *T. remus* provenientes de ovos de *Agrotis spinifera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) originaram indivíduos maiores em comparação aos parasitoides provenientes de ovos de *Spodoptera*

litura (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae), reforçando a influência hospedeira sobre a morfometria dos parasitoides produzidos.

Foi observado redução nas dimensões da asa dos parasitoides criados no hospedeiro alternativo *C.cephalonica*, entretanto a semelhança observada na porcentagem de indivíduos voadores de *T. remus* provenientes dos ovos desse hospedeiro, foi semelhante aos insetos provenientes dos ovos do hospedeiro natural *S. frugiperda*, indicando que essa redução do tamanho da asa, apesar de significativa, não foi suficiente para comprometer a capacidade de voo do inseto produzido no hospedeiro alternativo. É importante salientar que a porcentagem média ($\approx 82\%$) de parasitoides capturados na tampa (“voadores”) foi semelhante à encontrada por outros autores utilizando a mesma unidade-teste, porém para diferentes linhagens de *T. pretiosum*. Rodrigues et al. (2009) verificaram médias de 85,9 a 97,7% de indivíduos voadores e Prezotti et al. (2002) porcentagens médias entre 74,7 e 90,6%. O tubo de ensaio existente no modelo denominado ESALQ utilizado para o teste de vôo porque permite que o parasitoide, após a emergência, percorra um longo caminho até a extremidade superior, com tempo suficiente para distender suas asas e voar, permitindo que ele seja capturado na tampa do modelo e não no anel de cola (Prezotti et al., 2002).

Assim, considerando a semelhança entre os resultados com *T. remus* neste trabalho e aqueles verificados para *T. pretiosum*, sendo esta última espécie para a qual a unidade-teste foi indicada, pode-se afirmar que é possível utilizar o modelo ESALQ para determinar a atividade de voo de *T. remus*. Ainda, a semelhança na porcentagem de voadores observada indica que os parasitoides, independentemente do hospedeiro e do número de gerações, estão aptos a se dispersarem ao serem liberados no campo. Neste contexto, a adequabilidade do hospedeiro alternativo *C.cephalonica* para criação massal é ratificada pela manutenção dos parâmetros de comprimento de corpo e tíbia observados nos parasitoides provenientes desse hospedeiro alternativo. O comprimento do corpo verificado neste experimento foi semelhante aquele já descrito para *T. remus*, que variou de 0,5 a 0,6 mm (Cave, 2000).

Entre os parasitoides “caminhadores”, a média de indivíduos capturados no anel de cola ($\approx 17\%$) foi superior aos dados obtidos por outros autores com linhagens de *T. pretiosum* (Prezotti et al., 2002; Rodrigues et al., 2009), o que provavelmente está relacionado à diferenças comportamentais entre as espécies. A porcentagem destes indivíduos que apresentaram deformidades, como asas dobradas ou atrofiadas, foi inferior a 1%, demonstrando que a maioria dos indivíduos apresentavam asas aparentemente normais. Esse fato ratifica que a simples observação da porcentagem de indivíduos que apresentam asas deformadas, em testes de controle de qualidade, não é suficiente para caracterizar a qualidade do parasitoide, já que quase a totalidade dos indivíduos caminhadores apresentava asas aparentemente normais (Prezotti et al., 2002). É importante salientar ainda que, estes indivíduos não voadores devem ser melhor avaliados antes de determinar que os mesmos atuam negativamente em programas de controle biológico, sendo que Gardner & Lenteren (1986) consideraram que, tanto a capacidade de voar como a de caminhar, são características importantes para o desempenho do inimigo natural em condições de campo, pois estão relacionadas com o forrageamento e a dispersão. Neste contexto, pode-se inferir que *T. remus* criado em ambos os hospedeiros, em diferentes gerações, possuem atividade de voo para a dispersão em campo.

Considerando conjuntamente a morfometria e o teste de voo, pode-se afirmar que o tamanho de *T. remus*, principalmente o comprimento e largura das asas, mesmo apresentando diferenças significativas entre os hospedeiros, sendo maiores em *S. frugiperda*, não interferiu na atividade de voo do inseto, visto que não foram verificadas diferenças significativas na porcentagem de indivíduos “voadores” observados nos testes de laboratório. Por outro lado, é importante salientar que outras características biológicas podem ser afetadas além da capacidade de voo, devido às alterações no tamanho do parasitoide. Por exemplo, na natureza é comum encontrar padrões de aumento da fecundidade com o aumento do tamanho do indivíduo adulto. Chau & Mackauer (2001), por exemplo, relataram que o parasitoide

Monoctonus paulensis (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) preferiu pulgões de maior tamanho, o que foi compreendido como um processo de seleção para maximização da sua fecundidade (número, tamanho e qualidade de ovos). Além disso, a qualidade do hospedeiro não diz respeito apenas ao seu tamanho, que reflete a biomassa disponível para ser consumida pelo parasitoide, mas também ao seu período de desenvolvimento. Para maximizar seu tamanho em hospedeiros de baixa qualidade, o parasitoide pode reduzir sua taxa de crescimento, aumentando o período de desenvolvimento (Sequeira & Mackauer, 1992).

5.5. CONCLUSÃO

Levando-se em consideração a interação do tamanho do parasitoide e a atividade de voo, *T. remus* criado em ambos os hospedeiros apresenta-se igualmente eficaz em condições de laboratório.

5.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BURR, I.W.; FOSTER, L.A. **A test for equality of variances**. West Lafayette: University of Purdue, 1972. 26p.

CAVE, R.D. Biology, ecology and use in pest management of *Telenomus remus*. **Biocontrol**, Dordrecht, v.21, n.1, p. 21-26, 2000.

CHAU, A.; MACKAUER, M. Preference of the aphid parasitoid *Monoctonus paulensis* (Hymenoptera: Braconidae, Aphidinae) for different aphid species: female choice and offspring survival. **Biological Control**, Orlando, v. 20, p.30-38, 2001.

CLARKE, G.M.; MCKENZIE, L.J. Fluctuating asymmetry as a quality control indicator for insect mass rearing processes. **Journal Economy Entomology**, Laham, v. 85, p. 2045-2050, 1992.

DUTTON, A.; BIGLER, F. Flight activity assessment of the egg parasitoid *Trichogramma brassicae* (Hym.: Trichogrammatidae) in laboratory and field conditions. **Entomophaga**, Paris, v. 40, p. 223-233, 1995.

GARDNER, S.M.; LENTEREN, J.C. Characterization of the arrestment responses of *Trichogramma evanescens*. **Oecologia**, Berlim, v.8, n.2, p.265-270, 1986.

GAUTUM, R.D. Influence of different noctuid hosts on the parasitisation by *Telenomus remus* Nixon (Scelionidae: Hymenoptera). **Journal of Entomological Research**, New Delhi, v. 10, p. 70-73, 1986.

GRENIER, S.; GRILLE, G.; BASSO, C.; PINTUREAU, B. Effects of the host species and the number of parasitoids per host on the size of some *Trichogramma species* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 11, p. 21-26, 2001.

KAZMER, D.J.; LUCK, R.F. Female body size, fitness and biological control quality: Field experiments with *Trichogramma pretiosum*. **Les Colloques de l'INRA**, v. 56, p. 37-40, 1991.

MARSTON, N.; ERTLE, L.R. Host influence on the bionomics of *Trichogramma minutum*. **Annals of Entomological Society of America**, Knoxville, v. 66, p. 1155-1162, 1973.

PREZOTTI, L. **Controle de qualidade de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em criações de laboratório**. 81 f. 2001. Tese de doutorado, Piracicaba, ESALQ/USP. 2001.

PREZOTTI, L.; PARRA, J.R.P.; VENCovsky, R.; DIAS, C.T.; CRUZ, I.; CHAGAS, M.C.M. Teste de vôo como critério de avaliação da qualidade de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Adaptação de metodologia. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.31, n.3, p.411-417, 2002

RODRIGUES, S. M. M.; SAMPAIO, M. V.; MIRANDA, J. E. Avaliação da capacidade de vôo, parasitismo e emergência de linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 4, p. 749-753, 2009.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide: statistics**, version 8e. Cary, NC: SAS Institute (2001), 2001.

SEQUEIRA, R.; MACKAUER, M. Nutritional ecology of an insect host-parasitoid association: the pea aphid *Aphis ervi* system. **Ecology**, Tempe, v. 73, p. 183-189, 1992.

SHAPIRO, S.S.; WILK, M.B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, London, v.52, p.591-611, 1965.

van LENTEREN, J.C. **Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures**. Wallingford: CABI, 2003. 327 p.

VAZ, L.A.L.; TAVARES, A.T.; LOMÔNACO, C. Diversidade e tamanho de himenópteros parasitoides de *Brevicoryne brassicae* L. e *Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n.2, p. 225-230, 2004.

CAPÍTULO 6:

Dispersão de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) nas culturas de milho e soja.

6.1. INTRODUÇÃO

Telenomus remus Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) é um parasitoide de ovos que foi introduzido no Brasil para controle da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) (Pedrasi & Parra, 1986). A introdução de agentes de controle biológico necessita de estudos para que possam ser utilizados em novo agroecossistema, como àqueles relacionado ao comportamento de dispersão (Castillo et al., 2006).

Em agroecossistemas, o conhecimento da capacidade e padrão de dispersão dos parasitoides, assim como os fatores que os afetam, devem nortear a elaboração de estratégias eficientes de liberação, visando garantir a eficácia em campo. A maior ou menor eficiência de controle de um parasitoide, em liberações inundativas, está diretamente ligada a sua capacidade de dispersão, pois a partir deste valor é possível definir o número mínimo de pontos de liberação por unidade de área.

A dispersão varia em função das características da espécie e/ou linhagem do parasitoide e da cultura na qual serão realizadas as liberações (Stinner et al., 1974; Lopes, 1988 e Sá et al., 1993). Nesse contexto, as características intrínsecas de cada cultura, em função da condição microclimática criada pela mesma, podem afetar a capacidade de "busca" do parasitoide, pela variação, principalmente, da temperatura e área foliar para forrageamento do parasitoide em busca do hospedeiro em cada condição (Biever, 1972).

Portanto, este trabalho objetivou estudar a capacidade de dispersão do parasitoide *T. remus* nas culturas de milho e soja, em diferentes estádios fenológicos, e relacionar este comportamento aos fatores abióticos dos agroecossistemas avaliados.

6.2. MATERIAL E MÉTODOS

6.2.1. Área experimental e procedimentos

Os experimentos foram conduzidos com 2 repetições para áreas com liberações e 2

áreas testemunhas, para cada estágio de desenvolvimento e/ou cultura avaliada (Tabela 17) na fazenda experimental da Embrapa Soja localizada em Londrina, PR (-51°11'0.54"Long.; -23°11'58.94" Lat.), em plantios de milho Balu 188 e soja BRS 295, com espaçamento de 0,70 m entre linhas e 5 plantas por metro para milho e 0,50 m entre linhas e 15 plantas por metro para soja. Em cada repetição foram demarcados seis círculos concêntricos distanciados em raios de 5, 10, 15, 20, 25, 30 m e em cada planta foi colocada uma postura, contendo aproximadamente 100 ovos, sendo infestadas 8, 24, 40, 56, 72 e 88 plantas por círculo, respectivamente (Figura 12). As cartelas contendo as posturas (Figura 13A) foram grampeadas em folhas de plantas de milho na parte abaxial das folhas e próximas ao cartucho (Figura 13B); para a cultura da soja na parte abaxial das folhas e na parte superior das plantas (assemelhando-se ao hábito de oviposição das mariposas). Os ovos de *S. frugiperda* utilizados para infestação artificial foram obtidos da criação que seguiu a metodologia descrita por Pomari et al. (2012).

Figura 12. Metodologia de liberação de *Telenomus remus* para avaliar a dispersão do parasitoide. Os pontos demarcados em cada círculo referem-se às plantas infestadas com cartelas de ovos de *Spodoptera frugiperda*.

Figura 13. A) Cartela contendo ovos de *Spodoptera frugiperda* **B)** Cartela contendo ovos de *Spodoptera frugiperda* grampeada na parte abaxial da folha de milho (Foto: Adair V. Carneiro)

Posteriormente à infestação artificial, foi realizada apenas uma liberação de aproximadamente 150.000 adultos recém-emergidos (até 24 h) de *T. remus*, no ponto central de cada círculo e no início da manhã. O número de adultos liberados foi extrapolado em 10 vezes àquele considerado nos dados publicados por Pomari et al. (2013). As duas repetições da testemunha, de forma análoga, foram apenas realizadas a infestação artificial, em que tal procedimento permitiu corrigir o parasitismo obtido caso houvesse parasitismo natural. Os parasitoides utilizados na liberação foram provenientes da criação conforme descrito no capítulo 1, sendo eles acondicionados em potes de plástico (2 L), cobertos com filme plástico de PVC preso com elástico (Figura 14A). Esses potes, que continham mel para alimentação dos adultos, foram acomodados no solo. No momento da liberação, o filme plástico de PVC foi retirado para permitir a saída dos parasitoides (Figura 14B).

Figura 14. A) Potes contendo parasitoides recém-emergidos e liberados no ponto central; B) Pote de criação massal de *Telenomus remus* (Fotos: Aline F. Pomari).

Os ovos de *S. frugiperda* ficaram expostos ao parasitismo durante 24 horas, quando foram retirados e substituídos. Esse processo ocorreu no período de 24, 48, 72 e 96 horas após a liberação dos parasitoides. As cartelas retiradas foram levadas ao laboratório, individualizadas em saquinhos plásticos (Figura 15A), devidamente identificados e acondicionados em sala climatizada regulada a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 h, até a emergência dos adultos do parasitoide (Figura 15B).

Figura 15. A) Cartelas retiradas do campo, individualizadas e colocadas em saquinhos plásticos. B) Sacos plásticos referentes a cada dia de coleta e armazenando de cartelas individualizadas em saquinhos (Foto: Aline F. Pomari).

6.2.2. Safras e culturas em que foram realizados os experimentos

Este experimento foi conduzido em três safras e em três estádios fenológicos distintos para a cultura do milho e em duas safras com três estádios fenológicos distintos para a cultura da soja (Tabela 17). É importante destacar que, para ambas as culturas, em uma das safras avaliadas (segunda safra 2013), foi realizado o experimento utilizando a mesma metodologia, mas, liberando parasitoides criados em ovos de *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) e *S. frugiperda* a fim de comparar a capacidade de dispersão de *T. remus* criado em ovos de ambos hospedeiros.

Tabela 17. Épocas em que foram realizados os experimentos de dispersão de *Telenomus remus*. Londrina, PR.

Safra	Cultura	Estádios fenológicos	Hospedeiros dos parasitoides liberados
2012	Milho	V2/3; V5/6; V8/9	<i>S. frugiperda</i> (F*)
2012-13	Milho	V3; V6/7; V9/10	<i>S. frugiperda</i> (F*)
2012-13	Soja	V7; R3; R6	<i>S. frugiperda</i> (F*)
2013	Milho	V2/3; V5/6; V10	<i>C. cephalonica</i> (F7 a F9)
2013	Soja	V2/3; R1; R2/3	<i>C. cephalonica</i> (F7 a F9)

**T. remus* criado em ovos de *S. frugiperda* nas gerações 216 a 240.

6.2.3. Arranjo experimental e avaliações

Para cada estágio de cada cultura avaliada, as duas repetições dos tratamentos (com liberação de parasitoides e as duas repetições da testemunha (sem liberação de parasitoides) foram instaladas distantes 100 m uma da outra (Figura 16). Foram avaliados: porcentagem de parasitismo, número de pontos de liberação por unidade de área e influência de fatores climáticos na dispersão e parasitismo de *T. remus*.

Figura 16. Área experimental em Londrina, PR onde foi realizado o experimento. Os círculos representam ilustrativamente como foram conduzidos em campo.

Para a avaliação de parasitismo foi estabelecida a relação matemática entre o raio de dispersão e o número de ovos parasitados, por meio de análise de regressão. Para determinar o número de pontos por hectare, foi definida a distância média de dispersão (DM) e a área de dispersão (s^2) do parasitoide, na cultura do milho em três diferentes estádios fenológicos, utilizando o modelo proposto por Dobzhansky & Wright (1943), conforme descrição a seguir:

$$s^2 = \frac{\frac{\sum(r^3 * i)}{a}}{\frac{\sum(r * i)}{a} + \frac{\bar{C}}{2\pi}}$$

$$DM = \frac{\frac{\sum(r^2 * i)}{a}}{\frac{\sum(r * i)}{a} + \frac{\bar{C}}{2\pi}}$$

Onde:

s^2 = variância e indica a área de dispersão;

DM = distância média (metros) de dispersão;

r = distância do centro às armadilhas;

a = n° de armadilhas por círculo;

$\overline{C}$ = n° médio de ovos parasitados por armadilha no círculo central;

i = n° total de ovos parasitados em cada círculo.

Para os fatores abióticos, a influência da velocidade e direção eólica foi avaliada utilizando a Escala de Beaufort (Silveira Neto et al., 1976) (Tabela 18), sendo que os gráficos de dispersão em relação a estes fatores foram confeccionados utilizando o software SigmaPlot v.12.0 (Systat Software, 2010). A influência da temperatura foi discutida com base nos dados de Pomari et al. (2012) e a umidade relativa do ar foi avaliada seguindo os dados obtidos no experimento relatado no capítulo 4. Os dados climáticos utilizados para estas avaliações foram obtidos na estação meteorológica da Embrapa soja (51°11'03" Long.; 23°11'37") (Tabela 19).

Tabela 18. Escala de Beaufort (Silveira Neto et al., 1976).

Número da Escala	Designação em terra	Velocidade (m/s)	Dados para avaliar a velocidade (Em terra)
0	Calmo	0 a 0,5	Não se nota menor deslocamento nos mais leves objetos. A fumaça eleva-se verticalmente.
1	Quase calmo	0,5 a 1,5	A direção do vento é indicada pelo desvio da fumaça mas não pelos cata-ventos.
2	Brisa leve	2,0 a 3,1	Sente-se o vento nas faces; as folhas das árvores são levemente agitadas; os cata-ventos comuns são acionados.
3	Brisa forte	3,6 a 5,1	As folhas e os pequenos arbustos ficam em agitação contínua; as bandeiras leves começam a se estender.
4	Vento moderado	5,6 a 8,2	Movem-se os pequenos galhos das árvores, poeira e pedaços de papel são levantados.
5	Vento regular	8,7 a 10,8	As árvores pequenas com folhagens começam a oscilar, aparecem ondas com cristas nas superfícies dos rios e lagos.
6	Vento meio forte	11,3 a 13,9	Galhos maiores das árvores agitados; ouve-se o assobio produzido pelo vento ao passar pelos fios telegráficos; torna-se difícil usar o guarda-chuva.
7	Vento forte	14,5 a 17,0	Os troncos das árvores oscilam, torna-se difícil andar contra o vento.
8	Vento muito forte	17,5 a 20,6	Geralmente torna-se impossível andar contra o vento. Quebram-se os galhos das árvores.
9	Ventania	20,1 a 24,4	Ocorrem pequenos danos nas edificações (telhas arrancadas, etc.).
10	Vendaval	24,8 a 28,3	As árvores são derrubadas e as edificações sofrem danos materiais consideráveis.
11	Tempestade	28,8 a 32,4	Resultam grandes destruições; as árvores são arrancadas. Observado muito raramente.
12	Furacão	33,0 a 38,5	Produzem efeitos devastadores.

Tabela 19. Dados climáticos obtidos durante o experimento de dispersão de *Telenomus remus* em milho e soja, em diferentes estádios fenológicos. Londrina, PR. 2012/13.

Cultura/Safra	Estádio fenológico	Temperatura (°C)			Velocidade Eólica(m/s)	UR média (%)
		Máx.	Mín.	Média		
Milho/Safrinha 2012	V2/3	29,7	19,4	23,9	1,8	78,1
	V5/6	25,3	17	20,7	2,2	80,6
	V8/9	25,2	15,1	19,6	2,1	75,7
Milho/Safra 2012-13	V3	30,1	17,4	23,7	2	58,6
	V6/7	26	18,7	22,1	3,2	82,3
	V9/10	33,2	22,6	26,7	1,8	71,4
Soja/Safra 2012-13	V7	28,7	21,3	24,2	2,2	83,7
	R3	26,4	16,8	21,5	2,9	82,6
	R6	27,9	20,1	23	1,8	88,8
Milho/Safrinha 2013	V2	25,6	17,3	21,2	2,2	86,3
	V5	25,9	17,9	21,6	3	86,8
	V10	26,1	15,4	20,7	1,9	71,2
Soja/Safrinha 2013	V3	26,4	16,6	21	2,5	77,2
	R1	25,3	17	20,7	2,2	80,6
	R2/3	24,1	10,5	17,9	1,9	56,6

6.3. RESULTADOS

6.3.1. Capacidade de dispersão de *Telenomus remus* em milho

O parasitismo em ovos de *S. frugiperda* por *T. remus* decresceu linearmente (Figura 17) à medida que foram distanciados os pontos de coleta dos ovos do ponto de liberação dos parasitoides adultos, para todas as fases de desenvolvimento avaliadas para primeira safra (safrinha 2012) e segunda safra (safra 2012/13) (Figura 17). Ainda, observou-se que, entre os três estádios fenológicos, as taxas de parasitismo foram maiores em V5/6 e V8/9 na safrinha 2012 (Figuras 17A, 17B, 17C), o que não se repetiu na safra 2012/13, quando as maiores taxas de parasitismo foram nos dois primeiros estádios fenológicos (V3 e V6/7) (Figuras 17D, 17E e 17F). Com base no modelo de Dobzhanski & Wright (1943), o raio médio de ação de *T. remus* e a área de dispersão dos parasitoides na cultura do milho, em relação aos ovos de *S. frugiperda*, foram 16,48 m e 358,58 m², respectivamente, resultando em 30 pontos de liberação por hectare (Tabela 20).

Figura 17. Porcentagem de parasitismo de *Telenomus remus* em ovos de *Spodoptera frugiperda* após liberação dos parasitoides na cultura do milho em diferentes estádios fenológicos. **A)** V2/3; **B)** V5/6 e **C)** V8/9 (Safrinha 2012); **D)** V3; **E)** V6/7 e **F)** V9/10 (Safrinha 2012/13). Londrina, PR.

Tabela 20. Distância média (DM), área de dispersão (s^2) e número de pontos/ha de *Telenomus remus* em ovos de *Spodoptera frugiperda*, na cultura do milho em duas safras. Londrina, PR.

Parâmetros	Safrinha 2012			Safrinha 2012/13			Média
	Estádio fenológico			Estádio fenológico			
	V2/3	V5/6	V8/9	V2/3	V5/6	V8/9	
S ² (m ²)	374,4	362,4	413,8	389,72	292,61	318,57	358,58
DM (m)	17,7	17,3	18,5	16,75	14,51	14,1	16,48
Pontos/hectare	29,5	28,2	24,5	27,12	35,53	34,79	29,94

Em relação aos fatores abióticos, a temperatura média na safrinha 2012 foi maior no estágio V2/3 (23°C), em relação aos outros dois (20°C), e a umidade relativa foi semelhante em todos os estágios ($\approx 80\%$) (Tabela 19). Diferentemente, a safra apresentou temperatura mais elevada, sendo a maior média constatada no estágio V9/10 (27°C), em relação aos outros dois ($\approx 23^\circ\text{C}$), e a umidade relativa foi acima de 70% nos estágios mais avançados em relação ao estágio V3 que apresentou média de 59% (Tabela 19).

Na safrinha 2012, a média das velocidades eólicas (1,8; 2,2 e 2,1 m/s para os estágios fenológicos V2/3, V5/6 e V8/9, respectivamente) não apresentaram diferenças significativas, de acordo com a Escala de Beaufort, por se encaixarem na mesma classe (Tabela 18). Foi possível observar correlação entre odirecionamento eólico e o padrão de dispersão dos parasitoides, principalmente no estágio inicial da cultura (Figura 18). Já na safra 2012/13, a média das velocidades eólicas 2,0; 3,2 e 1,8 m/s para os estágios fenológicos V3, V6/7 e V9/10, respectivamente, apresentaram diferenças significativas de acordo com a Escala de Beaufort, sendo que para o estágio V6/7 se encaixou na classe brisa forte, diferindo dos outros dois, considerados brisa leve (Tabela 18). Embora tenha sido registrado a ocorrência de velocidades eólicas diferentes durante as avaliações. Foi possível observar correlação direta entre a dispersão dos parasitoides e a direção do vento, em todos os períodos de avaliação (Figura 18). Assim, contrariamente ao observado anteriormente para a safrinnha, o desenvolvimento da cultura não diminui a influência eólica na dispersão dos parasitoides.

Figura 18. Direção eólica na dispersão de *Telenomus remus*. Cada ponto representa uma postura de *Spodoptera frugiperda* parasitada. Milho em estágio fenológico: **A)** V2/3, **B)** V5/6 e **C)** V8/9 (Safrinha 2012) **D)** V3, **E)** V6/7 e **F)** V9/10 (Safrinha 2012/13). Londrina, PR.

6.3.2. Capacidade de dispersão de *Telenomus remus* em soja

Semelhante ao observado na cultura do milho, o parasitismo de ovos de *S. frugiperda* por *T. remus* também decresceu linearmente na cultura da soja à medida que estes foram distanciados do ponto central de liberação dos parasitoides em todos os estágios fenológicos de

desenvolvimento da cultura, apresentando ainda taxas de parasitismo semelhantes entre os estádios (Figura 19). A partir destes dados e baseando-se no modelo de Dobzhanski & Wright (1943), foram obtidos o raio médio de ação de *T. remus* (14,2 m) e a área de dispersão (323,3 m²), resultando em 42 pontos de liberação/ha (Tabela 21).

Figura 19. Parasitismo de *Telenomus remus* em ovos de *Spodoptera frugiperda* após liberação dos parasitoides na cultura da soja em diferentes estádios fenológicos. **A)** V7; **B)** R3 e **C)** R6. Safra 2012/13. Londrina, PR.

Tabela 21: Distância média (DM), área de dispersão (s²) e número de pontos/ha de *Telenomus remus* em ovos de *Spodoptera frugiperda*, na cultura da soja. Londrina, PR. Safra 2012/13.

Parâmetros	Estádio fenológico			Média
	V7	R3	R6	
S ² (m ²)	420,3	349,8	199,8	323,3
DM (m)	17,4	15,6	9,7	14,2
Pontos/hectare	25,4	30,0	70,5	41,9

Os fatores climáticos temperatura média ($\approx 22^{\circ}\text{C}$) e umidade relativa ($\approx 84\%$) foram semelhantes para os três estádios fenológicos (Tabela 19). A média das velocidades eólicas 2,2; 2,9 e 1,8 m/s para os estádios fenológicos V7, R3 e R7, respectivamente, encaixaram-se em diferentes classes de acordo com a Escala de Beaufort (Silveira Neto et al., 1976), sendo os primeiros estádios considerados como brisa leve (Tabela 18). Em relação ao direcionamento eólico, foi possível observar que o padrão de dispersão dos parasitoides sofreram influência deste fator em todas as fases de desenvolvimento da cultura avaliada (Figura 20).

Figura 20. Direção eólica na dispersão de *Telenomus remus*. Cada ponto representa uma postura de *Spodoptera frugiperda* parasitada. Cultura da soja em estádio fenológico: A) V7, B) R3 e C) R6. Londrina, PR. Safra 2012/13.

6.3.3. Capacidade de dispersão de *Telenomus remus* provenientes de ovos de *Corcyra cephalonica* e *Spodoptera frugiperda* em milho

O parasitismo de ovos de *S. frugiperda* por *T. remus* decresceu de forma linear à medida que foram distanciados os pontos de coleta em todos os estádios fenológicos, independentemente do hospedeiro utilizado na criação deste inimigo natural. Para os três estádios fenológicos e ambos os parasitoides (*T. remus* criado em ovos de *S. frugiperda* ou ovos de *C. cephalonica*), as taxas de parasitismo foram semelhantes (Figuras 21A a 21F). Utilizando-se o modelo de Dobzhanski & Wright (1943), os parasitoides provenientes de ovos de *C. cephalonica* apresentaram raio médio de ação e área de dispersão muito semelhante aos parasitoides provenientes de ovos do hospedeiro natural *S. frugiperda*. Os valores observados foram de 348,0 m² e 15,4 m para a área de dispersão e raio médio de ação, respectivamente, quando os parasitoides foram criados em ovos de *C. cephalonica*, resultando em 39 pontos de liberação por hectare (Tabela 22). Para *T. remus* provenientes de ovos de *S. frugiperda* a área de dispersão e o raio médio de ação foram 333,8 m² e 14,9 m, respectivamente, resultando em 32 pontos de liberação por hectare (Tabela 22).

Figura 21. Parasitismo de *Telenomus remus* provenientes de ovos de *Corcyra cephalonica* ou *Spodoptera frugiperda*, parasitando ovos de *S. frugiperda* após liberação na cultura do milho em diferentes estádios fenológicos. **A)** V2 – Parasitoides de *C. cephalonica*; **B)** V2 – Parasitoides de *S. frugiperda*; **C)** V5 – Parasitoides de *C. cephalonica*; **D)** V5 – Parasitoides de *S. frugiperda*; **E)** V10 – Parasitoides de *C. cephalonica* e **F)** V10 – Parasitoides de *S. frugiperda*. Safrinha 2013. Londrina, PR.

Tabela 22: Distância média (DM), área de dispersão (s^2) e número de pontos/ha de *Telenomus remus* em ovos de *Spodoptera frugiperda*, na cultura domilho. Londrina, PR. Safrinha 2013.

Parâmetros	<i>T. remus</i> criado em <i>C. cephalonica</i>	<i>T. remus</i> criado em <i>S. frugiperda</i>
S²	348,0	333,8
DM	15,4	14,9
Pontos/hectare	39,4	32,4

Em relação aos fatores abióticos, a temperatura média ($\approx 21^\circ\text{C}$) e a umidade relativa ($>70\%$) foram semelhantes para os três estádios fenológicos (Tabela 19). A média das velocidades eólicas 2,2; 3,0 e 1,9 m/s para os estádios fenológicos V2, V5 e V10, respectivamente, encaixando-se em classes diferentes de acordo com a Escala de Beaufort (Silveira Neto et al., 1976), sendo os primeiros estádios considerados como brisa leve (Tabela 18). O direcionamento eólico influenciou igualmente os parasitoides nos diferentes estádios fenológicos, sendo verificados os pontos de parasitismo sempre na direção do vento, independentemente da velocidade (Figura 22).

Figura 22. Direção eólica na dispersão de *Telenomus remus*. Cada ponto representa uma postura de *Spodoptera frugiperda* parasitada. Cultura do milho em diferentes estádios fenológicos. **A)** V2 – Parasitoides de *Corcyra cephalonica*; **B)** V2 – Parasitoides de *S. frugiperda*; **C)** V5 – Parasitoides de *C. cephalonica*; **D)** V5 – Parasitoides de *S. frugiperda*; **E)** V10 – Parasitoides de *C. cephalonica* e **F)** V10 – Parasitoides de *S. frugiperda*. Safrinha 2013. Londrina, PR.

6.3.4. Capacidade de dispersão de *Telenomus remus* provenientes de ovos de *Corcyra cephalonica* e *Spodoptera frugiperda* em soja

O parasitismo de ovos de *S. frugiperda* por *T. remus* decresceu de forma linear à medida que estes foram distanciados do ponto central de liberação dos parasitoides adultos em todos os estádios fenológicos, independentemente de serem provenientes de ovos de *C. cephalonica* ou do hospedeiro natural *S. frugiperda*. Observa-se que, para os três estádios fenológicos da cultura, as taxas de parasitismo foram semelhantes entre os parasitoides criados nos diferentes hospedeiros, mas, entre os períodos de avaliação foi constatado maior parasitismo no estágio V3 (Figura 23). Semelhante ao observado na cultura do milho, não houve diferença na capacidade de dispersão entre os parasitoides provenientes de ovos de *C. cephalonica* ou *S. frugiperda*. Com base no modelo de Dobzhanski & Wright (1943), os parasitoides provenientes de ovos de *C. cephalonica* apresentaram raio médio de ação e a área de dispersão na cultura da soja, em relação aos ovos de *S. frugiperda*, de 12,2 m e 315,8 m² respectivamente, resultando em 38 pontos de liberação/ha. Para os parasitoides provenientes de ovos de *S. frugiperda*, o raio médio de ação e a área de dispersão foram de 14,2 m e 300,7 m² respectivamente, resultando em 36 pontos de liberação/ha (Tabela 23).

Figura 23. Parasitismo de *Telenomus remus* provenientes de ovos de *Corcyra cephalonica* e *Spodoptera frugiperda* e parasitando ovos de *S. frugiperda* após liberação na cultura dasoja em diferentes estádios fenológicos. **A)** V2/3 – Parasitoides de *C. cephalonica*; **B)** V2/3 – Parasitoides de *S. frugiperda*; **C)** R1 – Parasitoides de *C. cephalonica*; **D)** R1 – Parasitoides de *S. frugiperda*; **E)** R2/3 – Parasitoides de *C. cephalonica* e **F)** R2/3 – Parasitoides de *S. frugiperda*. Safrinha 2013. Londrina, PR.

Tabela 23. Distância média (DM), área de dispersão (s^2) e número de pontos/ha de *Telenomus remus* em ovos de *Spodoptera frugiperda*, na cultura do milho. Londrina, PR. Safrinha 2013.

Parâmetros	<i>T. remus</i> criado em <i>C. cephalonica</i>	<i>T. remus</i> criado em <i>S. frugiperda</i>
S ² (m ²)	315,8	300,7
DM (m)	12,2	14,2
Pontos/hectare	38,2	36,1

A temperatura média foi semelhante para os estádios fenológicos V3 e R1 ($\approx 21^\circ\text{C}$), bem como a umidade relativa (86%), e mais baixa em R2/3 (T: 18°C e UR: 71%) (Tabela 19). A média das velocidades eólicas 2,5; 2,2 e 1,9 m/s para os estádios fenológicos V3, R1 e R2/3, respectivamente, apresentaram diferenças de acordo com a Escala de Beaufort (Silveira Neto et al., 1976), sendo os primeiros estádios considerados como brisa leve e o último como quase calmo (Tabela 18). Em relação à direção do vento, este fator se mostrou mais expressivo do que a velocidade, uma vez que, independente do valor desta, a dispersão dos parasitoides foi diretamente relacionada a direção eólica (Figura 23).

Figura 23. Influência da direção eólica na dispersão de *Telenomus remus*. Cada ponto representa uma postura de *Spodoptera frugiperda* parasitada. Cultura da soja em diferentes estádios fenológicos. **A)** V3 – Parasitoides de *Corcyra cephalonica*; **B)** V3 – Parasitoides de *S. frugiperda*; **C)** R1 – Parasitoides de *C. cephalonica*; **D)** R1 – Parasitoides de *S. frugiperda*; **E)** R2/3 – Parasitoides de *C. cephalonica* e **F)** R2/3 – Parasitoides de *S. frugiperda*. Safrinha 2013. Londrina, PR.

6.4. DISCUSSÃO

Estratégias de controle biológico podem ser aperfeiçoadas por meio do conhecimento da

dispersão de espécies de insetos benéficos exóticos em seus novos ambientes (Caltagirone, 2001). Entretanto, esses estudos sobre a dispersão de insetos são escassos, principalmente levando-se em consideração os parasitoides de ovos, devido às dificuldades na detecção do deslocamento de pequenos organismos em seus ambientes (Godfray, 1994). Neste caso, onde um novo agente de controle biológico, como *T. remus*, foi introduzido no Brasil (Pedrasi & Parra, 1986), estudos de dispersão são essenciais para conhecer a sua capacidade de busca, bem como a sua habilidade de colonizar novas áreas.

Em geral, foi observado que *T. remus* proveniente de ovos de *S. frugiperda*, assim como de ovos do hospedeiro alternativo *C. cephalonica*, dispersaram nas duas culturas e estádios fenológicos de desenvolvimento da planta, até 30 m do ponto de liberação. Estes valores são superiores aos relatados por Silva (2007), que verificou o alcance de aproximadamente 12,5 m após 120 h da liberação de *T. remus* na cultura do algodão. Tal fato pode ser devido a diferentes linhagens do parasitoide testadas ou diferenças da estrutura das plantas cultivadas que representam mais ou menos obstáculos à dispersão e, conseqüentemente, ao parasitismo (Biever, 1972).

As análises de regressão determinaram um decréscimo linear nas taxas de parasitismo à medida que os pontos de coleta se distanciavam do ponto de liberação dos parasitoides, permitindo afirmar que a dispersão de *T. remus* deve ser aliada a sua eficiência de controle. Esta eficiência pode ser medida pela capacidade de parasitismo nas diferentes distâncias. Ávila et al. (2013) verificaram que *Cotesia urabae* Austin & Allen (Hymenoptera: Braconidae) dispersou por até 20 m, mas o parasitismo satisfatório para utilização em programas de controle biológico foi atingido até 5 m do ponto de liberação. Para *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), avaliado por até 15 m, os autores verificaram taxa de parasitismo elevada também a 5 m do ponto de liberação (Bueno et al., 2012). Embora estes autores tenham verificado capacidade de dispersão em distâncias inferiores, quando aliados as taxas de parasitismo, segundo resultados deste trabalho, pode-se determinar que o raio médio efetivo de

ação de *T. remus* foi de 18 m, superando os resultados relatados por Silva (2007).

O método de liberação de parasitoides e a sua uniformidade de distribuição em determinada área são os principais fatores que afetam a eficiência do controle exercido por esse organismo (Mills et al., 2000). Os resultados ora apresentados demonstram que o número de pontos de liberação para as culturas do milho e da soja, determinados pelo raio efetivo de dispersão, foi em média de 30 e 40 pontos por hectare, respectivamente, garantindo uma liberação homogênea de *T. remus* na área tratada em até 96 horas após a liberação e, consequentemente, promovendo elevada taxa de parasitismo, bem como um controle eficiente de *S. frugiperda* nas culturas. A diferença verificada no número de pontos de liberação para as duas culturas pode ser explicada em função da diferença apresentada na arquitetura de ambas as espécies vegetais, o que pode oferecer mais ou menos abrigo aos ovos da praga e, consequentemente, obstáculos para o parasitismo de *T. remus*. Gontijo et al. (2010) afirmaram que dentre os fatores que podem afetar a eficiência de agentes de controle biológico, explicando o diferente número de parasitoides necessários para cada agroecossistema, estão a estrutura ou arquitetura das plantas, sendo a arquitetura de uma cultura relacionada ao arranjo espacial e as dimensões de seus ramos e folhas, específicos para cada planta e estágio de desenvolvimento (Cloyd & Sadof, 2000). Ainda, as estruturas que afetam os inimigos naturais incluem o tamanho da planta, o número de folhas (Cloyd & Sadof, 2000) e a área de superfície das plantas (Maini & Burgio, 1990). Assim, é evidente que o número de pontos de liberação aqui relatado é diretamente relacionado às diferenças apresentadas entre as culturas de milho e soja.

Além dos fatores relacionados à arquitetura das plantas, os fatores abióticos como temperatura, umidade, velocidade e direção eólica podem atuar diretamente na eficiência de dispersão e parasitismo de agentes de controle biológico, devendo ser considerados. Para *T. remus*, a temperatura e a umidade relativa são os principais fatores que afetam o parasitismo e o desenvolvimento (Cave, 2000). Assim, avaliando-se as temperaturas nos dias em que foram realizados os experimentos, foi possível inferir que não desempenharam papel que impactou na

atividade dos parasitoides. Tal afirmação foi obtida comparando-se as médias de temperaturas com aquelas apresentadas por Pomari et al. (2012), onde a faixa ótima para desenvolvimento de *T. remus* variou entre 22 e 28°C. Ainda, Silva (2007) relatou que *T. remus* apresenta atividade de voo na faixa entre 18 e 33°C, sendo estas temperaturas detectadas em todos os experimentos realizados. Em relação à umidade relativa, na maior parte do tempo de experimentação, foi superior a 60%, valor satisfatório ao parasitismo e desenvolvimento de *T. remus* (dados registrados no Capítulo 4).

Diante dos fatores abióticos temperatura e umidade relativa do ar não influenciarem a capacidade de dispersão de *T. remus*, a velocidade e a direção eólica foram avaliadas. Diversos estudos relataram a influência das condições eólicas no comportamento de dispersão dos insetos após liberações experimentais (Fink & Volk, 1995; McClure, 1990; Weisser et al., 1997). Neste trabalho foi observada forte relação entre as diferentes direções eólicas e o padrão de dispersão de *T. remus*, independente da velocidade do vento. Essas observações são contrárias às aquelas citadas por Silva (2007) onde, avaliando a dispersão de *T. remus* em algodoeiro, verificou que a velocidade eólica classificada como “quase calmo” na escala de Beaufort, não influenciou o padrão de dispersão dos parasitoides; por outro lado, quando classificada como “brisa leve” foi determinante na dispersão dos insetos. Neste trabalho, ambas as velocidades foram classificadas na mesma escala, mas, nos dois casos, o efeito da direção eólica no comportamento de dispersão de *T. remus* mostrou claramente a dispersão a favor do vento. Um grande número de estudos relata o padrão de dispersão a favor do vento para parasitoides diminutos (Castillo et al., 2006; Hendricks, 1967; Sallam et al., 2001; Fournier & Boivin, 2000).

Em relação aos experimentos realizados em milho e soja na safra 2013, onde foi avaliada a capacidade de dispersão dos parasitoides provenientes do hospedeiro alternativo comparativamente ao hospedeiro natural, foi possível observar que as taxas de parasitismo foram semelhantes. As características biológicas de *T. remus* em ovos de *C. cephalonica* já

foram anteriormente discutidas. No capítulo anterior, foi avaliada a atividade de voo destes insetos em laboratório, não sendo verificada diferença significativa. Assim, a semelhança no padrão de dispersão dos parasitoides, independente no hospedeiro de criação, ratifica a hipótese de que o hospedeiro alternativo *C. cephalonica* não influenciou a qualidade dos parasitoides e, portanto, pode ser usado em sua criação massal em laboratório.

Sendo assim, determinou-se a capacidade de dispersão de *T. remus* e, conseqüentemente, o número de pontos de liberação por unidade de área. Aliado a isto, foi possível verificar que o alcance de dispersão dos parasitoides pode ser influenciado por alguns fatores como as características morfológicas das espécies de insetos e plantas envolvidos, condições climáticas dos locais de liberação, ovos dos hospedeiros, entre outros (Castillo et al., 2006; Sallam et al., 2000). Todos estes fatores podem influenciar a dispersão dos parasitoides, demonstrando que a capacidade de dispersão precisa ser considerada para cada situação onde o agente de controle biológico será utilizado.

6.4. CONCLUSÃO

O número de pontos de liberação de *T. remus* por hectare nas culturas de milho e soja é de 40, sendo que a direção eólica influencia diretamente o padrão de dispersão do inseto, devendo ser considerada quando das liberações em campo.

6.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ÁVILA, G.A.; BERNDT, L.A.; HOLWELL, G.I. First releases and monitoring of the biological control agent *Cotesia urabae* Austin and Allen (Hymenoptera: Braconidae). **New Zealand Entomology**, v. 36, p. 65–72, 2013.

BIEVER, K.D. Effect of the temperature on rate of search by *Trichogramma* and its potential application in field releases. **Environmental Entomology**, College Park, v. 1, p. 194–197, 1972.

BUENO, R.C.O.F.; PARRA, J.R.P.; BUENO, A.F. *Trichogramma pretiosum* parasitism and dispersal capacity: a basis for developing biological control programs for soybean caterpillars. **Bulletin of Biological Control**, v. 102, n. 1, p. 1-8, 2012.

CALTAGIRONE, C. Landmark examples in classical biological control. **Annual Review of Entomology**, v. 26, p. 213–232, 2001.

CASTILLO, A.; INFANTE, F.; VALLE, J.; ESPINOZA, J.C. Dispersión del parasitoide africano *Phymastichus coffea* La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) en un nuevo agroecosistema. **Folia Entomologica Mexicana**, v. 45, p. 319–327, 2006.

CAVE, R.D. Biology, ecology and use in pest management of *Telenomus remus*. **Biocontrol**, Dordrecht, v.21, n.1, p. 21-26, 2000.

CLOYD, R.A.; SADOFF, C.S. Effects of plant architecture on the attack rate of *Leptomastix dactylopii* (Hymenoptera: Encyrtidae), a parasitoid of the citrus mealy bug (Homoptera: Pseudococcidae). **Environmental Entomology**, College Park, v. 29, p. 535–541, 2000.

DOBZHANSKY, T.; WRIGHT, S. Genetics of natural populations x Dispersion rates in *Drosophila pseudoobscura*. **Genetics**, Toronto, v. 28, p. 304-340, 1943.

FINK, U.; VOLKL, W. The effect of abiotic factors of foraging and oviposition success of the aphid parasitoid, *Aphidius rosae*. **Oecologia**, Berlin, v. 103, p. 371–378, 1995.

FOURNIER, F.; BOIVIN, G. Comparative dispersal of *Trichogramma evanescens* and *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in relation to environmental conditions. **Environmental Entomology**, College Park, v. 12, n. 1, p. 55-63, 2000.

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

GONTIJO, L.M.; MARGOLIES, D.C.; NECHOLS, J.R.; CLOYD, R.A. Plant architecture, prey distribution and predator release strategy interact to affect foraging efficiency of the predatory mite *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae) on cucumber. **Biological Control**, Orlando, v. 53, p. 136–141, 2010.

HENDRICKS, D.E. Effect of wind on dispersal of *Trichogramma semifumatum*. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 60, p. 1367–1373, 1967.

MAINI, S.; BURGIO, G. **Biological control of the European corn borer in protected pepper by *Trichogramma maidis* Pint. And Voeg. and *Bacillus thuringiensis* Berl.** *Trichogramma* and Other Egg Parasitoids. pp. 213–216 in Proceedings, 3rd International Symposium, Les Colloques, Institut. National de La Recherche Agronomique (INRA), Paris, France, 23–27 September 1990, San Antonio, TX, USA, 1990.

McCLURE, M.S. Role of wind, birds, deer, and humans in the dispersal of hemlock woolly Adelgid (Homoptera: Adelgidae). **Environmental Entomology**, College Park, v. 19, p. 36–43, 1990.

MILLS, N.; PICKEL, C.; MANSFIELD, S.; Mc DOUGALL, S.; BUCHNER, R.; CAPRILE, J.; EDSTOM, J.; ELKINS, R.; HASEY, J.; KELLEY, K. Mass releases of *Trichogramma* wasps can reduce damage from codling moth. **California Agriculture**, Berkeley, v. 56, p. 22–25, 2000.

POMARI, A.F.; BUENO, A.F.; BUENO, R.C.O.F.; MENEZES JUNIOR, A.O. Biological characteristics and thermal requirements of the biological control agent *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) reared on eggs of different species of the genus *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of Entomological Society of America**, Knoxville, v. 105, n.1, p.72-81, 2012.

SÁ, L.A.N.; PARRA, J.R.P.; SILVEIRA NETO, S. Capacidade de dispersão de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 para controle de *Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818 em milho. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 50, p. 226–231, 1993.

SALLAM, M. N.; OVERHOLT, W.A.; KAIRU, E. Dispersal of the exotic parasitoid *Cotesia flavipes* in a new ecosystem. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 98, p. 211–217, 2000.

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.).** 160f. 2007. Dissertação de mestrado, Unesp/FCAV. 2007.

SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; NOVA, N.A.V. **Manual de ecologia dos insetos.** Piracicaba: Ceres, 419p. 1976.

SYSTAT SOFTWARE. Sigma Plot Statistics Users Guide. Systat Software. 2010.

WEISSER, W.W.; VÖLKL, W. Dispersal in the aphid parasitoid, *Lysiphlebus cardui* (Marshall) (Hym., Aphididae), **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 121, p. 23–28, 1997.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Todos os experimentos que avaliaram a biologia e capacidade de parasitismo de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) em ovos de *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) foram fundamentais para a determinação de técnicas que possibilitem a criação em larga escala deste parasitoide em ovos desse hospedeiro alternativo. Aliado a isto, o conhecimento sobre a presença de condicionamento pré-imaginal nesta espécie possibilitou determinar o número mínimo de gerações (F19) em que o parasitoide deve ser criado em ovos de *C. cephalonica* para que apresente controle efetivo em ovos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae).

O controle de qualidade foi avaliado mediante a análise morfométrica e atividade de voo. Embora os parasitoides criados em ovos de *C. cephalonica* sejam menores do que aqueles criados em *S. frugiperda*, a atividade de voo foi semelhante. Assim, o modelo ESALQ-USP para avaliação desta característica pode ser utilizado para avaliação desta espécie.

A capacidade e o padrão de dispersão de *T. remus* foram avaliados nas culturas de milho e soja e foi verificado que, para ambas, o número de pontos de liberação é de 40/ha. Aliado a isto, foi determinado que a direção eólica atua diretamente no padrão de dispersão e deve ser considerada durante as liberações.

Assim, os resultados obtidos permitiram determinar um hospedeiro alternativo para criação do parasitoide em larga escala, bem como o número de pontos de liberação para que o controle de *S. frugiperda* seja efetivo. Entretanto, ainda restam alguns aspectos importantes a serem abordados. Por exemplo, qual o momento ideal de liberação? Qual é o número de insetos que devem ser liberados? Como deve ser realizada esta liberação?

Estas perguntas são importantes para que *T. remus* possa ser utilizado em programas de controle biológico com a eficácia desejada e necessária, uma vez que parasitoides de ovos

são organismos excelentes porque atuam na fase de ovo, não deixando com que a praga cause dano a cultura, mas, como amostrar esta fase da praga para que possa ser tomada a decisão de manejo, também é uma pergunta a ser respondida pela pesquisa.

Portanto, de forma geral, esta tese respondeu uma parte dos questionamentos existentes e vão auxiliar a construção de um programa de controle biológico para *S. frugiperda* em milho e soja.