

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

**Potencial de controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797)
(Lepidoptera: Noctuidae) em milho por *Trichogramma pretiosum*
Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e isolinhagem de
Telenomus remus Nixon, 1937 (Hymenoptera: Scelionidae),
isolados ou associados, em laboratório e semi-campo**

Lucas Fonseca de Lacerda

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração:
Entomologia

**Piracicaba
2022**

**Lucas Fonseca de Lacerda
Engenheiro Agrônomo**

**Potencial de controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797)
(Lepidoptera: Noctuidae) em milho por *Trichogramma pretiosum* Riley,
1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e isolinhagem de *Telenomus
remus* Nixon, 1937 (Hymenoptera: Scelionidae), isolados ou associados,
em laboratório e semi-campo**

versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:

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

Dissertação apresentada para obtenção do
título de Mestre em Ciências. Área de
concentração: Entomologia

**Piracicaba
2022**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Lacerda, Lucas Fonseca de

Potencial de controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho por *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e isolinhagem de *Telenomus remus* Nixon, 1937 (Hymenoptera: Scelionidae), isolados ou associados, em laboratório e semi-campo / Lucas Fonseca de Lacerda. - - versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2022.

66 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Controle biológico aumentativo 2. Isolinhagem 3. Lagarta-do-cartucho-do-milho 4. Parasitoides de ovos 5. Controle de qualidade I. Título

DEDICO

À toda a minha família, por todo apoio, carinho e compreensão recebidos ao longo de todos estes anos de vida, permitindo que me tornasse a pessoa que sou hoje.

OFEREÇO

À **Juliana Santos de Oliveira** minha companheira, por todo amor, carinho e apoio dados em tantos momentos difíceis desta caminhada.

À minha mãe, **Maria Isabel Fonseca**, que apesar de não estar mais presente entre nós, está comigo em todos os momentos, tenho certeza de que a conclusão desta etapa a deixaria muito feliz.

AGRADECIMENTOS

Ao **Professor Dr. José Roberto Postali Parra** pela orientação, oportunidades concedidas, ensinamentos referentes ao trabalho, os quais foram cruciais para conclusão da dissertação;

À **Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ)**, da Universidade de São Paulo pela oportunidade no curso de pós-graduação e excelente infraestrutura oferecida;

Ao **“São Paulo Advanced Research Center for Biological Control” (SPARCBio)**, pelo auxílio financeiro na compra de equipamentos e materiais fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho, projeto FAPESP: 2018/02317-5;

Ao **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pela concessão da bolsa de estudos durante o mestrado;

Ao **Dr. Aloisio Coelho Jr.** pelo auxílio, tempo e paciência na realização do presente trabalho, aliados à sua amizade;

À Professora **Clarice Garcia Borges Demétrio e Deoclecio Jardim Amorim**, pelo auxílio nas análises estatísticas;

À técnica de laboratório **Neide Graciano Zério**, pelo auxílio na criação de *S. frugiperda*.

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	9
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1 <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. Smith, 1797).....	15
2.2 <i>Trichogramma</i> spp.	17
2.3 <i>Telenomus remus</i> Nixon, 1937	18
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
3.1 Criação dos insetos envolvidos.....	21
3.1.1 Criação de <i>Trichogramma</i> spp.	21
3.1.2 Criação de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. Smith, 1797).....	22
3.1.3 Criação de <i>Telenomus remus</i> Nixon, 1937	22
3.2 Seleção da isolinhagem de <i>T. remus</i>	23
3.3 Comparação entre a linhagem de <i>T. remus</i> mantida em laboratório e a isolinhagem da espécie com relação à capacidade de voo e parasitismo.....	24
3.4 Diferenças morfológicas entre posturas de <i>S. frugiperda</i> obtidas em campo e em laboratório.	25
3.5 Capacidade de parasitismo de três linhagens de <i>Trichogramma</i> em ovos de <i>S. frugiperda</i> de laboratório.	27
3.6 Biologia de <i>Trichogramma pretiosum</i> Riley, 1879 linhagem AR e da isolinhagem de <i>T. remus</i> em ovos de <i>S. frugiperda</i> de laboratório.	28
3.7 Determinação do número de <i>T. pretiosum</i> AR e da isolinhagem de <i>T. remus</i> a ser liberado por ovos de <i>S. frugiperda</i> de laboratório.	29
3.8 Capacidade de parasitismo de <i>T. pretiosum</i> nas camadas de ovos inferiores das posturas de <i>S. frugiperda</i> de laboratório.....	30
3.9 Capacidade de voo da isolinhagem de <i>T. remus</i> em diferentes temperaturas e umidades relativas.	30
3.10 Testes de liberação da isolinhagem de <i>T. remus</i> e <i>T. pretiosum</i> AR em condições de semi-campo para o controle de <i>S. frugiperda</i>	31
4. RESULTADOS.....	35

4.1	Comparação entre a linhagem de <i>Telenomus remus</i> Nixon, 1937 mantida em laboratório e a isolinhagem da espécie com relação à capacidade de voo e parasitismo.....	35
4.2	Diferenças morfológicas entre posturas de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. Smith, 1797) obtidas em campo e em laboratório.	36
4.3	Capacidade de parasitismo de três linhagens de <i>Trichogramma</i> em ovos de <i>S. frugiperda</i> de laboratório.	36
4.4	Biologia de <i>Trichogramma pretiosum</i> Riley, 1879 linhagem AR e da isolinhagem de <i>T. remus</i> em ovos de <i>S. frugiperda</i> de laboratório.	37
4.5	Determinação do número de <i>T. pretiosum</i> AR e da isolinhagem de <i>T. remus</i> a ser liberado por ovo de <i>S. frugiperda</i> de laboratório.	39
4.6	Capacidade de parasitismo de <i>T. pretiosum</i> AR nas camadas de ovos inferiores das posturas de <i>S. frugiperda</i> de laboratório	42
4.7	Capacidade de voo da Isolinhagem de <i>T. remus</i> em diferentes temperaturas e umidades relativas.	42
4.8	Testes de liberação da isolinhagens de <i>T. remus</i> e <i>T. pretiosum</i> AR em condições de semi-campo para o controle de <i>S. frugiperda</i>	44
5.	DISCUSSÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS.....	47
5.1	Comparação entre a linhagem de <i>Telenomus remus</i> Nixon, 1937 mantida em laboratório e a isolinhagem da espécie com relação à capacidade de voo e parasitismo.....	47
5.2	Diferenças morfológicas entre posturas de <i>S. frugiperda</i> obtidas em campo e em laboratório	48
5.3	Capacidade de parasitismo de três linhagens de <i>Trichogramma</i> em ovos de <i>S. frugiperda</i> de laboratório.	49
5.4	Biologia de <i>Trichogramma pretiosum</i> Riley, 1879 linhagem AR e da isolinhagem de <i>T. remus</i> em ovos de <i>S. frugiperda</i> de laboratório.	51
5.5	Determinação do número de <i>T. pretiosum</i> AR e da isolinhagem de <i>T. remus</i> a ser liberados por ovo de <i>S. frugiperda</i> de laboratório.	52
5.6	Capacidade de parasitismo de <i>T. pretiosum</i> linhagem AR nas camadas de ovos inferiores das posturas de <i>S. frugiperda</i> de laboratório.	53
5.7	Capacidade de voo da Isolinhagem de <i>T. remus</i> em diferentes temperaturas e umidades relativas	54

5.8 Testes de liberação da isolinhagem de <i>T. remus</i> e <i>T. pretiosum</i> AR em condições de semi-campo para o controle de <i>S. frugiperda</i>	55
6. CONCLUSÕES.....	59
REFERÊNCIAS.....	61

RESUMO

Potencial de controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho por *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e isolinhagem de *Telenomus remus* Nixon, 1937 (Hymenoptera: Scelionidae), isolados ou associados, em laboratório e semi-campo

Spodoptera frugiperda (J.E. Smith, 1797) é uma praga que devido à sua polifagia e ampla distribuição geográfica é considerada uma das pragas mais importantes no Brasil e no mundo. Atualmente, os principais métodos utilizados para o seu controle são inseticidas e as plantas geneticamente modificadas (Bt); no entanto, relatos de populações resistentes a ambos os métodos são comuns, o que leva à necessidade do uso de práticas alternativas para o seu manejo, como o Controle Biológico. Dentro do Controle Biológico Aumentativo, o uso de parasitoides de ovos tem potencial, uma vez que ataca o hospedeiro antes que o dano seja feito à cultura. *Telenomus remus* Nixon, 1937 e *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 são parasitoides frequentemente descritos como possíveis agentes de controle de *S. frugiperda*. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo investigar o uso isolado e associado de *T. pretiosum* e *T. remus*, em ovos de *S. frugiperda*, por meio da seleção de linhagens dos parasitoides e a avaliação do potencial de parasitismo desses agentes de controle biológico, em diferentes temperaturas e UR em condições de laboratório e semi-campo, visando entender qual seria a melhor estratégia de uso das espécies em programas de controle biológico da lagarta-do-cartucho-do-milho. Os resultados obtidos na presente pesquisa permitem concluir que o método de seleção da isolinhagem de *T. remus* utilizado neste experimento foi capaz de preservar a boa capacidade de voo dentro da população. Não houve interferência em sua eficiência de parasitismo e degeneração ao longo das gerações; mesmo a linhagem selecionada de *T. pretiosum* AR não foi competitiva com a isolinhagem de *T. remus* em relação ao parasitismo de ovos de *S. frugiperda*; *T. pretiosum* AR se limitou a parasitar as camadas externas das posturas da praga, parasitismo este dificultado pelas escamas destas posturas, estas variáveis com relação ao número de camadas e área ocupada, para insetos criados em laboratório e coletados no campo, embora semelhantes em relação ao número de ovos por postura (em torno de 150 ovos); a associação de *T. pretiosum* AR e a isolinhagem de *T. remus* não resultou em ação sinérgica no controle de *S. frugiperda*; a isolinhagem de *T. remus* isoladamente foi utilizada para controle de *S. frugiperda* na base de 14 fêmeas para 100 ovos do inseto praga; a isolinhagem citada tem maior capacidade de voo na faixa de 25 a 30°C e na UR de 70 a 90%; a relação utilizada de fêmeas de *T. remus* liberadas por ovo do hospedeiro *S. frugiperda* pode afetar a razão sexual do agente de controle biológico produzindo menos fêmeas do parasitoide.

Palavras-chave: Controle biológico aumentativo, Isolinhagem, Lagarta-do-cartucho-do-milho, Parasitoides de ovos, Controle de qualidade

ABSTRACT

Control potential of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) in corn by *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and *Telenomus remus* Nixon, 1937 (Hymenoptera: Scelionidae) isoline isolated or associated in laboratory and semi-field conditions

Spodoptera frugiperda (J.E.Smith, 1797) is a pest that, due its polyphagy and wide geographic distribution, is considered today one of the most important pests in Brazil and in the world. Currently, the main methods used for its control are insecticides and genetically modified organisms (Bt), however, reports of populations resistant to both methods are common, which leads to the need of alternative methods for its control, such as Augmentative Biological Control. Within biological control, the use of egg parasitoids has potential, as it attacks the host before damage is done to the crop. *Telenomus remus* Nixon, 1937 and *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 are parasitoids frequently described as possible control agents for *S. frugiperda*. Thus, the present study aimed to investigate the isolated and associated use of *Trichogramma* and *T. remus*, in *S. frugiperda* eggs, through the selection of parasitoid strains and the evaluation of the parasitism potential of these biological control agents, at different temperatures and RH under laboratory and semi-field conditions, aiming to understand what would be the best strategy for using this species in biological control programs for the fall armyworm. The results obtained in this research allow us to conclude that the *T. remus* isoline selection method used in this experiment was able to preserve the good flight capacity within the population, without interfering with its parasitism efficiency; even the selected *T. pretiosum* AR strain was not competitive with the *T. remus* isoline strain in relation to *S. frugiperda* egg parasitism; *T. pretiosum* AR was able to parasitize only the external layers of the egg masses, parasitism was hampered by the scales on the egg masses, number of layers and area of egg masses differed, for insects reared in the field and laboratory, although similar in relation to the number of eggs per mass (around 150 eggs); the association of *T. pretiosum* AR and the *T. remus* isoline did not result in a synergistic action in the control of *S. frugiperda*; the *T. remus* isoline alone was used to control *S. frugiperda* on the basis of 14 females per 100 eggs of the insect pest; the isoline had greater flight capacity in the range of 25 to 30°C and in the RH of 70 to 90%; the ratio of *T. remus* females released per host egg may affect the sex ratio of the biological control agent, producing a progeny with fewer females of the parasitoid.

Keywords: Augmentative biological control, Isolines, Fall armyworm, Egg parasitoids, Quality control

1. INTRODUÇÃO

Spodoptera frugiperda (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), a lagarta-do-cartucho-do-milho, como é comumente conhecida, é uma praga polífaga, sendo referida em mais de 350 hospedeiros (Montezano et al. 2018), entre eles culturas de grande importância econômica como milho, algodoeiro, soja e arroz (Nagoshi 2009, Bueno et al. 2011, Wengrat et al. 2021). Quanto à sua distribuição, *S. frugiperda* é uma praga originária de regiões tropicais e subtropicais do continente americano, porém, recentemente foi relatada na Ásia, África e Oceania (Goergen et al. 2016, Ganiger et al. 2018, Kalleshwaraswamy et al. 2018, EPPO 2020). Atualmente, os principais métodos empregados no controle do inseto-praga mencionado são inseticidas químicos e organismos geneticamente modificados (Bt), porém, já existem diversos relatos de populações de *S. frugiperda* resistentes a diversas classes de inseticidas (Diez-rodríguez and Omoto 2001, Yu et al. 2003, Menezes-Netto et al. 2012, Carvalho et al. 2013) e às plantas transgênicas (Storer et al. 2010a).

Para diminuir o problema de populações resistentes a inseticidas e plantas transgênicas (Bt) é fundamental que sejam adotadas em campo estratégias de controle baseadas no conceito do Manejo Integrado de Pragas (MIP). O MIP é definido como um conjunto de métodos de controle distintos, adotados de forma conjunta, para manter a população do inseto-praga abaixo do nível de dano econômico, levando-se em conta critérios econômicos, ecológicos e sociais (Norris et al. 2003). Neste conjunto de ações, o uso do controle biológico aumentativo pode ser considerado um fator chave, apresentando vantagens quando comparado aos métodos químicos, como ausência de contaminação ambiental, incremento do controle biológico natural, diminuição do risco de contaminação ao aplicador e ao consumidor (Parra 2002) e também não existem relatos de populações resistentes a esse método de controle.

Dentre os diferentes métodos de controle biológico, o uso de parasitoides de ovos, de forma aumentativa (aplicada), tem se mostrado uma ferramenta eficiente, já que elimina a praga antes que esta consiga causar qualquer dano à cultura (Bleicher and Parra 1989). O método de controle biológico aumentativo consiste na coleta de inimigos naturais da praga alvo,

sua multiplicação massal (na escala de milhões) e sua liberação em grandes quantidades visando à manutenção da população da praga no nível de equilíbrio. Entre os diversos parasitoides relatados em ovos de *S. frugiperda*, duas espécies destacam-se como potenciais agentes de controle biológico aumentativo: *Telenomus remus* Nixon, 1937 (Hymenoptera: Scelionidae)(Ashley 1986, Molina-Ochoa et al. 2006), e parasitoides do gênero *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (Beserra and Parra 2004, Bueno, Bueno, et al. 2010, Wengrat et al. 2021).

Os parasitoides de ovos do gênero *Trichogramma* spp., extremamente generalistas, parasitam diversas famílias e espécies dentro da ordem Lepidoptera e são utilizados mundialmente em grandes áreas como agentes de controle biológico aumentativo, inclusive para o controle de *S. frugiperda* (Parra and Coelho Jr. 2019). Porém, apesar de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 ser um agente de controle já registrado comercialmente para o controle de *S. frugiperda* existem discussões por parte de alguns autores quanto ao seu uso, já que o parasitoide encontra dificuldade em parasitar posturas com muitas camadas e grande quantidade de escamas, parasitando assim somente os ovos mais superficiais e expostos da postura (Cave 2000, Beserra and Parra 2005, Dong et al. 2021). Por outro lado, *T. remus* é um parasitoide que apresenta um grande potencial como agente de controle de *S. frugiperda*, pois possui capacidade de parasitar posturas com grande quantidade de camadas e escamas, parasitando inclusive os ovos situados internamente nas diferentes camadas. Entretanto, embora existam registros de sucesso do seu uso em outros países, não há nenhum produto registrado para *T. remus* até o momento no Brasil. Recentemente *T. remus* foi descrito ocorrendo de forma natural em ovos de *S. frugiperda* e *Spodoptera cosmioides* Walker, 1858 em diferentes regiões do país, indicando que a espécie de fato se estabelece no agro ecossistema brasileiro, criando-se expectativas positivas quanto a sua utilização, pois trata-se da primeira referência de seu estabelecimento, desde a sua introdução em 1983 no Brasil (Wengrat et al. 2021).

Neste cenário, considerando-se o comportamento de parasitismo de ambas as espécies de inimigos naturais, *Trichogramma* spp. e *T. remus*, uma possível estratégia para o controle de *S. frugiperda*, seria a utilização de ambos os parasitoides de uma forma conjunta, na qual *T. remus* parasitaria posturas

com grande quantidade de escamas, incluindo suas camadas inferiores, enquanto *Trichogramma* spp. parasitaria posturas com menor número de camadas e quantidade de escamas. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo investigar o uso isolado e associado de *Trichogramma* e *T. remus*, em ovos de *S. frugiperda*, por meio da seleção de linhagens dos parasitoides e a avaliação do potencial de parasitismo desses agentes de controle biológico, em diferentes temperaturas e UR em condições de laboratório e semi-campo, visando entender qual seria a melhor estratégia de uso das espécies em programas de controle biológico da lagarta-do-cartucho-do-milho.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797)

Spodoptera frugiperda ou lagarta-do-cartucho-do-milho, como é comumente conhecida, sempre foi reconhecida como uma praga migratória de regiões tropicais e subtropicais das Américas que ocorria do sul do Canadá até a Argentina. Durante períodos de inverno as populações da praga sobreviviam migrando para regiões tropicais com temperaturas mais amenas e maior abundância de alimento, como por exemplo o sul dos EUA (Garcia et al. 2018) e o Brasil. Durante o outono, verão e primavera a praga dispersava em busca de novos nichos e habitats, migrando a longas distâncias atingindo os territórios de clima temperado como Argentina, Chile, os estados mais ao norte dos EUA até a fronteira canadense (Sparks 1979, Johnson 1987). Em 2016 *S. frugiperda* foi relatada pela primeira vez fora do continente americano, ocorrendo em diversos países do continente africano e a partir de então a praga já foi relatada na Índia, China, Tailândia, Bangladesh, Myanmar e Sri Lanka (Goergen et al. 2016, Ganiger et al. 2018, Kalleshwaraswamy et al. 2018, Jiang et al. 2019). No Brasil, devido às condições climáticas favoráveis e à disponibilidade de alimento durante o ano todo, pelo tipo da agricultura utilizada, a distribuição do inseto é extremamente ampla, sendo registrada em todo o território nacional (Cruz 1995).

Como já referido, a lagarta-do-cartucho é uma praga polífaga, sendo relatada em mais de 350 espécies de plantas hospedeiras (Montezano et al. 2018), dentre elas culturas de grande importância econômica como milho, soja e algodoeiro (Nagoshi 2009, Bueno et al. 2011). No Brasil, *S. frugiperda* é considerada uma das pragas mais importantes na cultura do milho atacando todos os estádios fenológicas da planta e podendo causar redução de até 57% no rendimento da cultura (Cruz et al. 1999).

Os adultos de *S. frugiperda* apresentam aproximadamente 15mm de comprimento e 35mm de envergadura, sendo de coloração acinzentada. As asas posteriores são de cor clara circundadas por linhas marrons e os machos diferem das fêmeas por apresentarem as asas anteriores manchadas (Cruz 1995).

O período ovo-adulto de *S. frugiperda* é de aproximadamente 30 dias, sendo a duração média do período embrionário, fase larval e fase pupal de 3, 20 e 9 dias, respectivamente a 25°C (Dew 1913, Parra and Carvalho 1984). As posturas são realizadas à noite, em posições variáveis nas folhas das plantas, embora alguns autores relatem que o inseto apresente preferência pela face abaxial das folhas e no caso do milho a região proximal da folha com o caule (Thomson and All 1983). Cada postura pode apresentar de 9 a 593 ovos (Cruz 1995), sendo uma fêmea capaz de colocar até 13 posturas ao longo de sua vida podendo realizar até 8 posturas em um só dia (Luginbill 1928). As posturas são depositadas em camadas sobrepostas de ovos, sendo o número de camadas variáveis. Os ovos são circulares quando vistos de cima, com diâmetro de 0,39 mm e apresentam forma oblonga esferoidal quando vistos de perfil lateral (Cruz 1995). A cor dos ovos pode variar bastante de acordo com a dieta do inseto, sendo descritas mais de 24 cores diferentes, porém as cores mais observadas são verde, azul e laranja (Nalim 1991).

As lagartas recém eclodidas são geralmente esbranquiçadas e a partir do terceiro ínstar passam a apresentar uma cor marrom-acinzentada na parte dorsal e verde na parte ventral. Uma lagarta completamente desenvolvida de primeiro ínstar apresenta aproximadamente 1,9 mm de comprimento enquanto uma lagarta de último ínstar pode ter até 35 mm de comprimento (Cruz 1995).

Os primeiros ínstars de *S. frugiperda* costumam se alimentar do tecido verde foliar da planta, porém, apenas de uma superfície da folha, deixando a epiderme membranosa intacta do lado oposto ao atacado, causando um sintoma conhecido por “folhas raspadas”, típico de lagartas de 1º, 2º e 3º ínstars. As lagartas mais desenvolvidas, do 4º ínstar em diante, produzem um dano maior, deixando orifícios nas folhas, podendo destruir completamente plantas jovens. As lagartas maiores podem também se alimentar do colmo de plantas e no caso de plantas de milho em estágio fenológico avançado podem atacar o pedúnculo da espiga, impedindo a formação de grãos, ou podem penetrar nas espigas e danificar diretamente os grãos (Vickery 1929, Cruz 1995), em um dano semelhante ao da lagarta-da-espiga, *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850).

Como já comentado, os métodos mais comuns utilizados no controle de *S. frugiperda* são o químico (inseticidas) e plantas transgênicas (Bt), porém o uso

irracional dessas táticas de controle atrelado ao alto potencial biótico da praga, com mais de 1400 ovos (Luginbill 1928), tem gerado uma alta pressão de seleção em campo por populações resistentes a estes métodos, já existindo diversos relatos de populações de *S. frugiperda* resistentes a várias classes distintas de inseticidas como os organofosforados, carbamatos, piretroides e benzoilureias (Diez-rodríguez and Omoto 2001, Yu et al. 2003, Carvalho et al. 2013) e diferentes eventos de transgenia (Storer et al. 2010b, Vélez et al. 2013).

2.2 *Trichogramma* spp.

Os estudos com parasitoides de ovos do gênero *Trichogramma* spp. foram extremamente impulsionados há quase um século quando Flanders em 1927 relatou a possibilidade de se criar estes parasitoides em hospedeiro alternativo, a traça *Sitotroga cerealella* (Olivier). Desde então um grande número de pesquisas visando ao seu uso como agente de controle biológico clássico e principalmente aumentativo foi desenvolvido, tornando os insetos do gênero *Trichogramma* os inimigos naturais mais conhecidos e utilizados no controle biológico ao redor do mundo (Gurr et al. 2002, Parra and Coelho Jr. 2019). As vantagens do uso de *Trichogramma* estão principalmente relacionadas à possibilidade de serem criados em ovos de hospedeiros alternativos, pois além de *S. cerealella* existem vários outros hospedeiros, sendo o mais comum *Anagasta kuehniella* (Zeller), facilitando assim sua produção, já que muitas vezes a criação de hospedeiros alternativos é mais prática e exige menos mão-de-obra, em comparação ao hospedeiro natural (Parra et al. 2015, Coelho Jr. et al. 2016). A baixa especificidade por hospedeiros de algumas espécies confere a *Trichogramma* uma versatilidade como agente de controle biológico, já que a maioria das espécies deste parasitoide tem a capacidade de parasitar diversas espécies especialmente aquelas pertencentes à ordem Lepidoptera (Pinto 1994).

Cerca de 240 espécies de *Trichogramma* já foram descritas; entre elas apenas 18 espécies foram criadas massalmente para uso em programas de controle biológico em pelo menos 16 países (Hassan 1997, Pinto 2006, Querino et al. 2021). Entre os países que mais utilizaram *Trichogramma* spp. como agente de controle biológico destacam-se a Rússia com relatos de liberação

em mais de 15 milhões de hectares (Filippov 1989), China com 2 milhões de hectares (Li 1994) e México com 1.5 milhões de hectares (Domínguez 1996). No Brasil, atualmente 3, 5 milhões de hectares são tratados com *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 em cana-de-açúcar para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) e 250 mil hectares de soja foram manejados com *Trichogramma pretiosum* Riley no controle de *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1805) e *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858)(Parra et al. 2015).

Devido ao grande sucesso do uso de *Trichogramma* no controle de pragas de culturas como cana-de-açúcar e soja espera-se que estes parasitoides possam também ser utilizados no controle de pragas de outras grandes culturas, como por exemplo no milho no controle de *S. frugiperda*. A referida praga causa grande dano econômico a culturas como soja, algodoeiro e milho e algumas espécies de *Trichogramma* têm a capacidade de parasitar os ovos desta espécie. De acordo com Beserra e Parra (2003) a capacidade de parasitismo e o número de adultos emergidos por ovo foram maiores para *Trichogramma atopovirilia* Oataman & Platner, 1983, em comparação a *Trichogramma pretiosum* Riley, indicando que *T. atopovirilia* seria um melhor agente de controle quando comparado a *T. pretiosum*. Em trabalho posterior os autores estudaram o comportamento de parasitismo de *T. atopovirilia* sobre diferentes posturas de *S. frugiperda* e constataram que devido ao tamanho diminuto de *Trichogramma* spp. os parasitoides tinham dificuldade de superar a camada de escamas depositada sobre as posturas por *S. frugiperda* e não eram capazes de alcançar os ovos de camadas inferiores das posturas com seu ovipositor, conseguindo parasitar apenas os ovos mais expostos na superfície das posturas de *S. frugiperda*. Tal informação indica que no caso de *S. frugiperda* parasitoides do gênero *Trichogramma* poderiam atuar como agentes complementares de controle biológico sendo o seu uso isolado inadequado para o controle efetivo da praga (Beserra and Parra 2005).

2.3 *Telenomus remus* Nixon, 1937

Telenomus remus é um parasitoide de ovos de lepidópteros das famílias Pyralidae, Arctiidae e Noctuidae porém apresenta preferência pela última família. Os adultos de *T. remus* apresentam coloração preta brilhante e seu corpo tem aproximadamente 0,5-0,6 mm de comprimento. As fêmeas

apresentam fêmur e tíbia de coloração escura e antenas clavadas, enquanto os machos apresentam fêmures e tíbia de cor clara e antenas do tipo filiforme, permitindo a distinção entre os sexos (Cave 2000). O período ovo-adulto de *T. remus* a 25°C é de 10 a 15 dias, e após esse período ocorre primeiro a emergência de machos (protandria), que se mantêm sobre os ovos hospedeiros esperando pela emergência das fêmeas que ocorre após 24 horas (Schwartz and Gerling 1974, Bueno et al. 2008). Assim que as fêmeas emergem, imediatamente ocorre a cópula e, a seguir, as fêmeas iniciam a busca por novos hospedeiros (Schwartz and Gerling 1974). *T. remus* apresenta reprodução partenogenética arrenotóca, ou seja, dando origem apenas a machos na ausência da cópula e suas fêmeas depositam apenas um ovo por ovo do hospedeiro (Alvarez and Roa 1995).

Telenomus remus é um inseto de origem asiática que foi introduzido nas Américas e no Caribe como agente de controle biológico clássico para o controle de lagartas do complexo *Spodoptera* (Cave 2000). No Brasil *T. remus* foi introduzido em três ocasiões, a primeira em 1983, depois novamente em 1996 e uma última vez em 2011, porém, apenas recentemente *T. remus* foi descrito ocorrendo naturalmente em posturas de *S. frugiperda* no país, indicando que se encontra estabelecido no Brasil (Wengrat et al. 2021).

A vantagem no uso de *T. remus* como agente de controle biológico aumentativo está relacionada à sua alta especificidade e especialização por hospedeiros da família Noctuidae especialmente os do gênero *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae), exercendo o parasitismo mesmo quando as posturas se encontram recobertas por grande quantidade de escamas e diversas camadas sobrepostas de ovos (Bueno et al. 2008, Carneiro and Fernandes 2012). A capacidade de parasitismo de *T. remus* em condições de laboratório foi avaliada pela primeira vez por Wojcik et al. (1976) na Flórida, EUA, sendo observado parasitismo de 80 a 100% em posturas de *S. frugiperda* contendo 50 ovos. Em trabalhos mais recentes Bueno et al (2008) relataram, também em condições de laboratório, eficiência de parasitismo de *T. remus* de 100% em posturas de *S. frugiperda* contendo 100 ovos, expostas por um período de apenas 5 horas às fêmeas do parasitoide. Outros trabalhos relatam altos níveis de parasitismo em condições de campo, em particular na

Venezuela, porém, pouca informação se tem disponível sobre a metodologia e os critérios de avaliação adotados em tais trabalhos. Revisões feitas por Cave (2000) e Ferrer (2001) relatam diversos casos de sucesso do uso de *T. remus* como agente de controle de *S. frugiperda* em campo em diversas regiões da Venezuela. Hernández et al. (1989) relataram taxas de parasitismo de *T. remus* em ovos de *S. frugiperda* de 78-100%, em um raio de 30 a 1400 m de distância, do ponto de liberação dos parasitoides, e dois meses depois parasitismo de 60 a 83% em um raio de dispersão de 2000 a 2200m do ponto de liberação, após liberação de 5000 parasitoides em liberações semanais, durante três semanas. Segundo Garcia-Roa et al. (2002) taxas de parasitismo de *T. remus* de 71% em posturas de *S. frugiperda* na cultura do milho foram observadas na Colômbia. No Brasil, percentuais de parasitismo semelhantes (76%) foram relatados em campo em posturas de *S. frugiperda*, após a liberação de diferentes densidades de *T. remus* em áreas experimentais de 16m² (Figueiredo et al. 2002), porém até hoje, não foi estabelecido com sucesso um programa de controle biológico para *S. frugiperda*, utilizando-se *T. remus* no país, especialmente pelos resultados conflitantes e pela degeneração da população de parasitoide em laboratório.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Criação dos insetos envolvidos

3.1.1 Criação de *Trichogramma* spp.

Os parasitoides do gênero *Trichogramma* spp. foram criados em ovos de seu hospedeiro alternativo *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879). Os ovos de *A. kuehniella* foram provenientes da criação existente no Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia e Acarologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ) da Universidade de São Paulo (USP), mantidas em dietas à base de farinha de trigo integral (97%) e levedura de cerveja (3%), de acordo com a metodologia proposta por Parra et al. (1997) onde 1 kg da dieta é inoculado com 0,30 g de ovos de *A. kuehniella*, em bandejas de material plástico fechadas com tampa contendo abertura coberta por tecido “voile” para permitir a troca gasosa pelos insetos e evitar o ataque de possíveis parasitoides e predadores, em especial, *Habrobracon hebetor* (Say, 1836). As bandejas são posteriormente transferidas para sala de desenvolvimento com temperatura de $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa inferior a 60% para evitar a ocorrência de ácaros e microrganismos. Após a emergência dos primeiros adultos (aproximadamente 45 dias após a inoculação) as bandejas são transferidas para a sala de emergência onde é realizada a coleta diária dos adultos, que são transferidos para gaiolas onde é feita a coleta dos ovos também diariamente.

As espécies *T. pretiosum* e *T. atopovirilia* foram coletadas, respectivamente, em Piracicaba, SP sobre posturas de *S. frugiperda* em milho e São José dos Pinhais, PR sobre ovos de *Helicoverpa zea* em milho.

Para a criação dos parasitoides do gênero *Trichogramma* os ovos de *A. kuehniella* foram colados em cartões de papel, utilizando-se fita dupla face 3M® sendo posteriormente, submetidos ao processo de inviabilização pela exposição à radiação ultravioleta proveniente de uma lâmpada germicida, por 45 minutos a uma distância de 15 cm da fonte (Stein and Parra 1987). Posteriormente, as cartelas contendo os ovos eram expostas separadamente às fêmeas de *Trichogramma* spp. em tubos de vidro [1,5 cm Ø X 7cm de altura (A)]. Após o parasitismo, as cartelas contendo os ovos parasitados eram transferidas para tubos de vidros tampadas com filme plástico PVC Magipack®

e levados para câmaras climatizadas reguladas a $25 \pm 1^\circ\text{C}$; UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14h, para permitir o desenvolvimento dos parasitoides.

3.1.2 Criação de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797)

As posturas de laboratório que foram utilizadas neste trabalho foram provenientes da criação de *S. frugiperda* já estabelecida no Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ por 20 gerações após sua coleta no campo experimental da ESALQ Piracicaba, São Paulo. Os insetos foram criados utilizando-se a dieta de Greene et al. (1976) com metodologia descrita por Parra (2001). As lagartas de 1^o e 2^o instares são pré-inoculadas em recipientes de material plástico de 200ml contendo a dieta artificial e mantidas em câmara climatizada regulada a $24 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$, fotofase de 14h até atingirem a fase de pupa. As pupas por sua vez são individualizadas em placas de Petri e mantidas em câmaras climatizadas nas mesmas condições anteriores até que ocorra a emergência dos adultos. Os adultos foram transferidos na proporção de 1 macho para 2 fêmeas em gaiolas de PVC (15 cm Ø x 20cm A) recobertas com papel sulfite que serviu como substrato de postura, o qual era trocado diariamente para a coleta dos ovos.

3.1.3 Criação de *Telenomus remus* Nixon, 1937

Os parasitoides *T. remus* utilizados no presente estudo também são provenientes da criação existente no Laboratório de Biologia de Insetos anteriormente mencionado, tendo sido coletado em Piracicaba, São Paulo. Eles foram mantidos em posturas de *S. frugiperda* provenientes de laboratório. As posturas de *S. frugiperda* eram oferecidas ao parasitoide em tubos de vidro (1,5 cm Ø x 7 cm A) contendo gotículas de mel puro para alimentação dos parasitoides adultos. Após 24h de parasitismo as posturas eram então transferidas para tubos novos de vidro (1,5 cm Ø x 7 cm A) também contendo gotículas de mel puro para alimentação dos adultos que emergissem e eram mantidos em câmaras climatizadas reguladas à temp. de $25 \pm 1^\circ\text{C}$; UR $70 \pm 10\%$; fotofase 14h.

3.2 Seleção da isolinhagem de *T. remus*

Levando-se em consideração que no ambiente de laboratório, os insetos são expostos a uma pressão evolutiva distinta daquela encontrada em seu habitat natural, e que isso pode favorecer a seleção de haplótipos com melhor performance em condições de laboratório como por exemplo, haplótipos relacionados à baixa capacidade de voo (de Paula et al. 2020), optou-se pela seleção de isolinhagens de *T. remus* a fim de se evitar tal efeito.

Foram utilizados isolinhagens de *T. remus*, ou seja, linhagens com variabilidade genética inferior a 0,01%, criadas a partir de endocruzamentos de indivíduos que apresentavam boa capacidade de voo. Para seleção desses indivíduos foram utilizadas unidades de teste de voo do modelo ESALQ proposto por Prezotti et al. (2002) que baseou-se no modelo de Dutton e Bigler (Dutton and Bigler 1995) com algumas adaptações. As unidades eram constituídas de cilindro de PVC (15 cm Ø x 20cm A) tampado por uma placa de Petri de 15 cm de diâmetro transparente contendo uma cartela com posturas de *S. frugiperda* fixadas em seu centro. O interior do cilindro foi revestido com papel preto, estimulando os insetos a movimentarem-se em direção a luz, no topo da gaiola. Nesta folha de papel preto um anel de 0,5 cm de espessura de cola entomológica (“stick”) foi aplicado a 3,5 cm da base do cilindro garantindo que qualquer inseto que tentasse chegar ao topo da gaiola caminhando, ficasse preso no anel de cola, assegurando-se assim a seleção apenas de indivíduos voadores. Uma postura de *S. frugiperda* parasitada por *T. remus* prestes a emergir era colocada no centro do cilindro, dentro de um tubo de vidro de 1,5 cm de diâmetro e 8,5 cm de altura, com a finalidade de possibilitar a distensão das asas de *T. remus* após sua emergência. Dentro do tubo também eram colocadas gotículas de mel para alimentação dos adultos.

Quarenta e oito horas após o início da emergência, a cartela com ovos de *S. frugiperda* fixada no topo da gaiola, era coletada e os ovos parasitados eram utilizados novamente para se repetir o procedimento descrito anteriormente por três gerações. Após três gerações uma única fêmea era selecionada na população e colocada dentro de um tubo contendo gotículas de mel e posturas de *S. frugiperda* recém emergidas e não parasitadas. Após a emergência da geração F1, um casal (de irmãos) era novamente selecionado

dentro da população e transferido para um novo tubo de vidro contendo posturas de *S. frugiperda* recém colocadas e não parasitadas. Este procedimento de endocruzamento (cruzamento consanguíneo) foi repetido sucessivamente por nove gerações, garantindo assim uma população com variabilidade genética inferior a 0,01%, considerada como uma “isolinagem pura” (Li 1955). A seleção da isolinagem foi feita a partir da linhagem de *T. remus* coletada no Brasil no município de Piracicaba, SP, Brasil.

3.3 Comparação entre a linhagem de *T. remus* mantida em laboratório e a isolinagem da espécie com relação à capacidade de voo e parasitismo

Para verificar se a isolinagem selecionada apresentava características favoráveis ao seu desempenho em campo, quando comparada a uma linhagem comum mantida por mais de 60 gerações em laboratório, foram realizados testes para determinar a capacidade de voo e de parasitismo de cada linhagem.

A capacidade de parasitismo foi determinada individualizando-se 25 fêmeas de cada linhagem, recém emergidas e sem experiência prévia de parasitismo em tubos de vidro contendo gotículas de mel e 100 ± 15 ovos de *S. frugiperda*. Os ovos foram expostos ao parasitismo por 24h e os tubos foram mantidos à temp. de $25 \pm 1^\circ\text{C}$; UR $70 \pm 10\%$; fotofase 14h até a emergência total dos adultos. Após a emergência, os adultos foram mortos em um “freezer” (-20°C) e contados para se determinar o número de ovos parasitados. As posturas também foram verificadas observando-se ovos inviáveis e ovos parasitados, mas sem ocorrência de emergência

A capacidade de voo de cada linhagem foi observada utilizando-se gaiolas de voo do modelo ESALQ referido em 3.2. Porém desta vez, na placa de Petri de 15,5 cm utilizada para tampar a parte superior da gaiola continha apenas cola entomológica (“stick”), que serviu para a captura de adultos voadores de *T. remus*.

O voo foi permitido por 48h e após esse período as gaiolas de voo foram transferidas para um “freezer” (-20°C), para matar os adultos e assim facilitar a contagem dos indivíduos. Os adultos de *T. remus* coletados na tampa superior do cilindro foram considerados voadores, os presos no anel de cola caminhadores e os adultos na base do cilindro e dentro do tubo de vidro como

não voadores. Foram realizadas 8 repetições para cada linhagem, sendo tais linhagens mantidas na temp. de $25 \pm 1^\circ\text{C}$; UR $70 \pm 10\%$; fotofase 14h.

Análise de dados

O modelo padrão para este tipo de estudo é o modelo de regressão multinomial. Para este modelo simples, as proporções subjacentes são assumidas como fixas. No entanto, para os dados de teste de voo, a variação real é maior do que o que seria previsto pelo modelo multinomial. Neste caso, uma distribuição comumente empregada para acomodar a superdispersão é o modelo Dirichlet- multinomial (Kim et al. 2018).

Usando o pacote MGLM (Zhang and Zhou 2016), ajustou-se o modelo de regressão Dirichlet- multinomial aos dados para indivíduos voadores, caminhadores e não voadores, incluindo o efeito de linhagem. Foi utilizado teste de razão de verossimilhanças (LR) para avaliar a significância dos efeitos entre o modelo completo e o modelo reduzido. As diferenças entre as proporções de indivíduos em cada classe nas diferentes linhagens foram avaliadas com base em intervalos de confiança bootstrap com 95% de confiança (IC_{95}) assumindo a suposição de normalidade.

Os dados de parasitismo das duas linhagens foram analisados pelo ajuste de modelos lineares generalizados (GLM) assumindo distribuição Poisson, considerando-se modelos Quase-Poisson quando constatada superdispersão. Todas as análises foram realizadas no software estatístico R 4.1.0 versão (R Development Core Team 2014).

3.4 Diferenças morfológicas entre posturas de *S. frugiperda* obtidas em campo e em laboratório

Foram realizadas coletas de campo para a caracterização morfológica das posturas de *S. frugiperda* encontradas nas condições naturais. No total foram coletadas 134 posturas em cinco locais: 1) Fazenda experimental Areão (Piracicaba, SP - $22^\circ 43' 30''$ S, $47^\circ 38' 56''$ W) (73 posturas); 2) Fazenda experimental Anhumas (Piracicaba, SP - $22^\circ 46' 25.1''$ S $47^\circ 57' 49.8''$ W) (16 posturas); 3) Área experimental Departamento de Genética da ESALQ (Piracicaba, SP - $22^\circ 42' 15.9''$ S $47^\circ 38' 17.0''$ W) (3 posturas); 4) Fazenda

comercial (Pirassununga, SP - 21° 59' 45" S 47° 25' 33" O) (5 posturas) e Fazenda comercial na região do Pontal do Paranapanema (Paranapanema, SP - 23° 23' 20" S, 48° 43' 22" W) (37 posturas).

As posturas de laboratório foram obtidas a partir de populações de *S. frugiperda* estabelecidas no Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ. As posturas eram coletadas em gaiolas de tubo de PVC (15 cm Ø x 20cm A) que continham em seu interior solução de mel a 10% e folha de papel sulfite recobrimdo todo o interior do tubo. Diariamente, as gaiolas eram observadas para verificar se havia posturas sobre a folha de papel, que era então trocada diariamente.

As posturas coletadas em campo e em laboratório foram fotografadas através de uma câmera Canon 80D acoplada a uma lente Macro MPE-65mm e posteriormente analisadas no software de análise de imagens Image-Pro Premier 9.1.4. onde foi observado o número de ovos, o número de camadas e a área (mm²) de cada postura. O método utilizado para determinar a quantidade de ovos presentes em cada postura foi o método de contagem parcial proposto por Leuck and Perkins (1972) realizando-se a contagem do número de ovos na camada superior e multiplicando-se este valor pelo número de camadas existentes na postura, adicionando se os ovos contados nas bordas das camadas subsequentes.

Análise de dados

O efeito do ambiente de oviposição sobre a quantidade de ovos, número de camadas e área média das posturas de *S. frugiperda* foram analisados pelo ajuste de modelos lineares generalizados assumindo distribuição Poisson, considerando modelos Quase-Poisson quando constatada superdispersão. Quando significativo, o efeito do ambiente de oviposição, sobre as características morfológicas das posturas, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de comparações múltiplas de Tukey ao nível de significância de 0,05. Todas as análises foram realizadas no software estatístico R 4.1.0 versão (R Development Core Team 2021).

3.5 Capacidade de parasitismo de três linhagens de *Trichogramma* em ovos de *S. frugiperda* de laboratório

A literatura aponta *T. atopovirilia* como um agente de controle de *S. frugiperda* com capacidade de parasitismo superior a *T. pretiosum* (Beserra and Parra 2005) porém nas coletas de campo realizadas no item 3.4, foram coletadas duas linhagens distintas de *T. pretiosum* parasitando naturalmente ovos de *S. frugiperda* em áreas comerciais sem histórico de liberação dos parasitoides. Uma delas foi encontrada na fazenda experimental Areão (Piracicaba, SP - 22° 43' 30" S, 47° 38' 56" W) e denominada de AR, e a outra linhagem foi coletada em uma fazenda comercial na região do Pontal do Paranapanema (Paranapanema, SP - 23° 23' 20" S, 48° 43' 22" W) que também é conhecida como Holambra 2 e por isso a linhagem foi denominada de H2. Assim, foi realizado um teste preliminar de eficiência de parasitismo entre as duas linhagens de *T. pretiosum* (AR e H2) encontradas em campo, e uma linhagem de *T. atopovirilia* coletada em ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) em Fazenda comercial em São José dos Pinhais (São José dos Pinhais, PR - 25°32'06" S, 49°12'21" W), que já vinha sendo mantida no laboratório para que a linhagem com melhor desempenho fosse selecionada e utilizada nos demais testes da pesquisa.

Para seleção, foram individualizadas de cada linhagem 20 fêmeas recém emergidas e sem experiência prévia de parasitismo. Tais fêmeas eram acondicionadas em tubos de vidro contendo gotícula de mel e 50 ± 10 ovos de *S. frugiperda*. As posturas no interior do tubo, eram trocadas diariamente, para que a média diária de parasitismo de cada linhagem fosse verificada. O experimento foi mantido por 4 dias, período em que o parasitoide (independente da linhagem) apresenta maior capacidade de parasitismo. Os tubos foram mantidos durante o experimento a temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$; UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14h, as posturas parasitadas foram mantidas nas mesmas condições de temperatura, UR e fotoperíodo até a emergência dos parasitoides.

Análise de dados

Utilizou-se um modelo GLM com distribuição Quasipoisson ajustado para uma análise de interação dos fatores linhagem e dias. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de comparações múltiplas de Tukey ao nível de significância de 0,05. Todas as análises foram realizadas no software estatístico R 4.1.0 versão (R Development Core Team 2021).

3.6 Biologia de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 linhagem AR e da isolinhagem de *T. remus* em ovos de *S. frugiperda* de laboratório

Com base nos resultados apresentados no item 4.3, a linhagem *T. pretiosum* AR foi selecionada, para ser avaliada, no estudo da biologia e nos demais experimentos realizados neste trabalho.

Para estudar a biologia de *T. remus* e *T. pretiosum* em ovos de *S. frugiperda* foram realizados em laboratório bioensaios com 20 repetições para cada espécie separadamente, seguindo-se a metodologia proposta por Beserra e Parra (2004), onde eram oferecidos diariamente para fêmeas recém emergidas de *T. remus* e *T. pretiosum*, ovos de *S. frugiperda* com, no máximo, 24h de idade, em uma quantidade de aproximadamente 100 ± 15 ovos por fêmea de *T. remus* (Bueno, Carneiro, et al. 2010) e 50 ± 10 ovos por fêmea de *T. pretiosum* (Beserra and Parra 2004). Os ovos foram oferecidos em tubos de vidro (1,2 cm Ø x 7,5 cm A), contendo como fonte de alimento uma gota de mel puro, por um período de 24h.

Antes da instalação do experimento, as fêmeas de cada espécie foram criadas por uma geração, em ovos de *S. frugiperda*, procurando-se eliminar o efeito do hospedeiro alternativo pelo provável condicionamento pré-imaginal (Vinson 1998). Durante o experimento foram avaliados: duração do desenvolvimento (ovo-adulto), viabilidade do parasitismo, ritmo de oviposição diário, fecundidade total, número de adultos emergidos por ovo, razão sexual ($rs = n^{\circ}$ de fêmeas/ n° de fêmeas + n° de machos), duração do período embrionário e longevidade dos parasitoides.

3.7 Determinação do número de *T. pretiosum* AR e da isolinhagem de *T. remus* a ser liberado por ovos de *S. frugiperda* de laboratório

Para se determinar o número ideal de fêmeas de *T. remus* e *T. pretiosum* a ser liberado em relação ao número de ovos de *S. frugiperda*; foi estabelecida, com base nos estudos realizados em 4.6, uma quantidade fixa de ovos de *S. frugiperda* para ser oferecida para cada espécie de parasitoide, ou seja, 50 ± 10 ovos para *T. pretiosum* e 100 ± 15 ovos para *T. remus*, que foram então expostos a diferentes quantidades de fêmeas de cada espécie, para que posteriormente a eficiência de parasitismo de cada uma fosse verificada e comparada.

Para *T. remus* foram testados sete tratamentos 1, 2, 4, 6, 8, 10 e 14 fêmeas para cada conjunto de 100 ± 15 ovos de *S. frugiperda* e para *T. pretiosum* quatro tratamentos de 2, 4, 8 e 12 fêmeas para cada conjunto de 50 ± 10 ovos de *S. frugiperda*. Para cada tratamento (diferentes números de parasitoides) 20 repetições (cartelas com ovos de *S. frugiperda*) foram preparadas e o parasitismo foi permitido por 24h na temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$; UR $70 \pm 10\%$ e fotófase de 14h. Após 24h de parasitismo as fêmeas foram mortas e as posturas mantidas em câmara climatizada nas mesmas condições do parasitismo, até a emergência dos adultos para que se pudesse verificar a eficiência e viabilidade de parasitismo de cada tratamento.

Análise de dados

As médias de parasitismo obtidas nas diferentes concentrações de fêmeas de *T. remus* para um número fixo de ovos de *S. frugiperda* foram analisadas por meio do ajuste de modelos lineares generalizados assumindo distribuição Poisson, considerando modelos Quase-Poisson quando constatada superdispersão. Quando significativo, o efeito de diferentes concentrações de *T. remus*, sobre o parasitismo médio, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de comparações múltiplas de Tukey ao nível de significância de 0,05. Todas as análises estatísticas foram realizadas no software estatístico R 4.1.0 versão (R Development Core Team 2021).

3.8 Capacidade de parasitismo de *T. pretiosum* nas camadas de ovos inferiores das posturas de *S. frugiperda* de laboratório

Este experimento foi conduzido com o objetivo de verificar a capacidade de *T. pretiosum* parasitar ovos das camadas inferiores das posturas de *S. frugiperda*. Para isso 10 posturas contendo aproximadamente 100 ovos de *S. frugiperda* com duas camadas e sem escamas depositadas em sua superfície, foram selecionadas e fotografadas através de câmera microscópica Leica® EZ4HD. Posteriormente cada uma dessas posturas foi oferecida individualmente para o parasitismo por 8 fêmeas de *T. pretiosum* em tubos de vidro (7cm A x 1,5 cm Ø) contendo em seu interior gotículas de mel e tampados com filme plástico. O parasitismo foi permitido por 24h.

Após 24h, as fêmeas de *T. pretiosum* eram mortas e a camada superior de ovos das posturas era cuidadosamente retirada com auxílio de um pincel, evitando assim que se danificassem as posturas das camadas inferiores. Estas foram então armazenadas na temp. de $25 \pm 1^\circ\text{C}$; UR $70 \pm 10\%$; fotofase 14h, até que ocorresse o escurecimento dos ovos parasitados e a eventual eclosão das lagartas provenientes de ovos não parasitados. Depois desse período as posturas foram novamente fotografadas para avaliar se os ovos da camada inferior da postura, que antes estavam cobertos pela camada superior, se encontravam parasitados ou não.

3.9 Capacidade de voo da isolinhagem de *T. remus* em diferentes temperaturas e umidades relativas

A capacidade de voo de *T. remus* foi estudada em cinco temperaturas (18, 20, 25, 30 e 35°C) e quatro umidades relativas (30%, 50%, 70% e 90%). As gaiolas de voo e procedimentos utilizados neste ensaio são os mesmos descritos anteriormente no item 3.3 Para cada tratamento foram realizadas 10 repetições.

Análise de dados

Para análise dos dados foi utilizado um modelo de regressão multinomial; porém, nos dados de teste de voo, a variação real é maior do que o que seria previsto pelo modelo multinomial (superdispersão). Neste caso, uma

distribuição comumente empregada para acomodar a superdispersão é o modelo Dirichlet- multinomial (Kim et al., 2018).

Usando o pacote MGLM (Zhang & Zhou, 2018), ajustou-se o modelo Dirichlet- multinomial aos dados para indivíduos voadores, caminhadores e não voadores, incluindo o efeito de umidade como fator. Foi utilizado o teste de razão de verossimilhanças (LR) para avaliar a significância dos efeitos entre o modelo completo e o modelo reduzido. As diferenças entre as proporções de indivíduos em cada classe nas diferentes temperaturas foram avaliadas com base em intervalos de confiança bootstrap com 95% de confiança (IC₉₅), assumindo a suposição de normalidade.

O melhor modelo foi selecionado via teste da razão de verossimilhança e critério de informação de Akaike (AIC) (Akaike 1974). As análises foram realizadas no software estatístico R 4.1.0 versão (R Development Core Team 2021).

3.10 Testes de liberação da isolinhagem de *T. remus* e *T. pretiosum* AR em condições de semi-campo para o controle de *S. frugiperda*

O potencial de controle de *S. frugiperda* pelas duas espécies de parasitoides, *T. remus* e *T. pretiosum*, liberados de forma isolada ou em associação, foi avaliado em gaiolas (50cm L x 50cm A x 50cm P) com armação de material plástico cobertas com tecido “voile”. As gaiolas foram posicionadas sobre bancadas metálicas e mantidas em casa de vegetação de vidro. Em cada gaiola foi colocada um tubete contendo uma planta de milho em estágio V2/V3, em que, uma postura de *S. frugiperda* recém colocada (menos de 24h) foi afixada com presilha metálica em uma de suas folhas de forma aleatória.

O número de ovos de cada postura de *S. frugiperda* utilizada foi estimado com base no método de contagem parcial proposto por Leuck e Perkins (1972). A partir da quantidade de ovos presentes em cada postura foi determinado quantas fêmeas de cada parasitoide deveriam ser liberadas em cada repetição, de acordo com a proporção estabelecida para cada tratamento. A menor postura de *S. frugiperda* utilizada neste experimento continha 106 ovos e a maior 320 ovos. Nenhuma das posturas sofreu qualquer tipo de modificação que, aparentemente, pudesse interferir no comportamento de parasitismo.

A quantidade de fêmeas de *T. pretiosum* a ser liberada para cada 50 ovos de *S. frugiperda* em cada tratamento foi determinada com base nos resultados obtidos no item 4.5. Porém, o número de fêmeas de *T. remus* a ser liberado para cada 100 ovos de *S. frugiperda* para cada tratamento não pode ser determinado neste experimento. Assim, utilizaram-se duas densidades distintas para *T. remus*: aquela em que foi observado o maior valor numérico de parasitismo (6 *T. remus*) e a de maior densidade utilizada (14 *T. remus*). A opção de utilizar a densidade de 14 *T. remus* para cada 100 ovos de *S. frugiperda*, ocorreu também com base em valores descritos por Queiroz et al. (2017), que relatou que 13 a 14 fêmeas de *T. remus* devem ser liberadas para cada 100 ovos de *S. frugiperda*. A partir dessas quantidades foram definidos os seguintes tratamentos: (i) 6 *T. remus* + 8 *T. pretiosum*, (ii) 14 *T. remus* + 8 *T. pretiosum*, (iii) 6 *T. remus*, (iv) 14 *T. remus* e (v) 8 *T. pretiosum*.

As fêmeas de cada espécie foram individualizadas, com auxílio de um microscópio estereoscópico, baseando-se no dimorfismo sexual das antenas (Bowen and Stern 1966, Cave 2000) e posteriormente transferidas para tubos de vidro (1,5 cm Ø × 8,5 cm) contendo em seu interior gotículas de mel puro para sua alimentação. Os parasitoides eram liberados agitando-se o tubo de vidro virado com a boca para baixo, no topo da gaiola, tentando imitar a condição de uma liberação comercial de campo feita por veículos aéreos não tripulados (VANT ou drones). Posteriormente, os tubos foram deixados na base de cada tubete e o parasitismo foi permitido por 48h.

Após este período, as posturas foram coletadas e mantidas na temp. de $25 \pm 1^\circ\text{C}$; UR $70 \pm 10\%$; fotofase 14h, até a eclosão das lagartas de *S. frugiperda* ou emergência dos parasitoides. Os ovos parasitados inviáveis, ou seja, ovos em que não houve emergência dos parasitoides, mas que o parasitismo foi confirmado após dissecação do hospedeiro, foram contabilizados e somados ao percentual de parasitismo. Nos tratamentos em que *T. remus* e *T. pretiosum* foram liberados de forma conjunta, foi quantificado o número médio de indivíduos emergidos de cada espécie de parasitoide das posturas do hospedeiro.

Análise de dados

O delineamento adotado foi o delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 5 tratamentos e 12 repetições. A variável resposta considerada, foi a proporção de parasitismo; no entanto, como os dados são superdispersos adotou-se a distribuição betabinomial com auxílio do pacote VGAM (Yee 2010). A qualidade de ajustes do modelo foi verificada através do gráfico hnp. Inicialmente foi utilizado o teste da razão de verossimilhanças (LR), a qualidade dos ajustes dos modelos foram verificadas por meio de curvas meio-normais de envelope (Moral et al. 2016) para verificar se existia diferença entre os tratamentos; entretanto, comparou-se os tratamentos pelos intervalos de confiança. As diferenças entre percentuais médios de parasitismo observados para cada tratamento, foram avaliadas com base em intervalos de confiança com 95% de confiança (IC95) assumindo a suposição de normalidade. Todas as análises estatísticas foram realizadas no software R versão 4.1.0 (R Core Team 2019).

4. RESULTADOS

4.1 Comparação entre linhagem de *Telenomus remus* Nixon, 1937 mantida em laboratório e a isolinhagem da espécie com relação à capacidade de voo e parasitismo

Ao comparar a capacidade de voo das duas linhagens de *T. remus*, o modelo Dirichlet- multinominal mostrou que houve diferença significativa entre elas (LR = 61,45; gl = 3; P= <0,001), ou seja, há diferença nas proporções de indivíduos voadores, caminhadores e não voadores entre as linhagens. Assim a isolinhagem apresentou maior proporção (87%) de insetos voadores; por outro lado, a linhagem mantida em laboratório por mais de 60 gerações apresentou apenas 31% de insetos voadores, com predominância de insetos não voadores (51%) (Tabela 1).

Tabela 1 - Porcentagem de indivíduos caminhadores, não voadores e voadores em linhagem mantida por mais de 60 gerações em laboratório e a isolinhagem de *Telenomus remus* no teste de voo modelo ESALQ. Temp. 25 ± 1°C; UR 70 ± 10%; fotofase 14h.

Linhagem	% Voadores	% Caminhadores	% Não voadores
Laboratório	30,9 a*	17,6 a	51,4 a
Isolinagem	86,9 b	5,0 b	8,1 b

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem em um nível de significância de 5% por meio do teste de Tukey

Quanto a capacidade de parasitismo em 24h da linhagem mantida em laboratório por mais de 60 gerações e a isolinhagem de *T. remus*, observou-se que, não houve diferença significativa entre elas ($F_{48,49} = 0.39$, $p < 0.05$). O parasitismo médio observado em 24h foi de 76,5 ovos para a isolinhagem e de 81,30 ovos para a linhagem mantida por mais de 60 gerações em laboratório (Tabela 2).

Tabela 2 – Capacidade de parasitismo média (\pm SEM) durante 24h da isolinhagem e da linhagem mantida em laboratório (por mais de 60 gerações) de *Telenomus remus*, durante as primeiras 24h de vida. Temp. $25 \pm 1^\circ\text{C}$; UR $70 \pm 10\%$; fotofase 14h.

	Isolinagem			Linhagem laboratório		
Média de ovos parasitados (\pm SEM)	76,5	\pm	4,66 a*	81,3	\pm	5,61 a

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem em um nível de significância de 5% por meio da análise da variância não significativa.

4.2 Diferenças morfológicas entre posturas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) obtidas em campo e em laboratório

Não houve diferença significativa entre o número médio de ovos observado em posturas coletadas no campo e em laboratório ($F_{241,243} = 1.33$, $p > 0.05$). O número médio de ovos observados nas posturas de campo e de laboratório foi de 149,19 e 160,78 ovos, respectivamente, não havendo diferenças entre tratamentos (Tabela 3).

O número médio de camadas, por outro lado, sofreu influência significativa do ambiente de oviposição ($F_{241,243} = 28,12$, $p < 0.05$). O número de camadas nas posturas de campo foi maior do que nas posturas de laboratório, embora as duas tenham se aproximado de duas camadas.

A área média das posturas também sofreu influência do ambiente de oviposição ($X^2 = 19,27$; $gl=2$; $p = < 0,05$), sendo as posturas de laboratório significativamente maiores do que as posturas observadas no campo (Tabela 3).

Tabela 3 – Número médio de ovos; número médio de camadas e área média de posturas (\pm SEM) de *Spodoptera frugiperda* de campo e de laboratório

	Número de ovos* (\pm SEM)			Número de camadas (\pm SEM)			Área média (mm ²) (\pm SEM)				
Campo	149,27	\pm	9,78	2,28	\pm	0,08	a	21,62	\pm	1,84	a
Laboratório	160,78	\pm	12,31	2,07	\pm	0,06	b	29,38	\pm	2,44	b

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem em um nível de significância de 5% por meio do teste de Tukey.

4.3 Capacidade de parasitismo de três linhagens de *Trichogramma* em ovos de *S. frugiperda* de laboratório

Ao comparar a eficiência de parasitismo das três linhagens de *Trichogramma* spp.; *T. pretiosum* AR (linhagem coletada em posturas de *S.*

frugiperda na fazenda Areão; Piracicaba, SP - 22° 43' 30" S, 47° 38' 56" W), *T. pretiosum* H2 (linhagem coletada em posturas de *S. frugiperda* em Paranapanema, SP - 23° 23' 20" S, 48° 43' 22" W) e *T. atopovirilia* (linhagem coletada em ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) em São José dos Pinhais, PR - 25°32'06" S, 49°12'21" W), pode-se observar que houve efeito significativo das linhagens ($F_{170,172} = 3,79$ $p < 0.05$) e do dia de exposição ao parasitismo ($F_{167,172} = 26,95$ $p < 0.05$) sobre a média diária de ovos parasitados.

Entre as linhagens estudadas, *T. pretiosum* AR foi a que parasitou o maior número de ovos ao longo dos quatro dias de estudo, parasitando aproximadamente 40% mais que as outras duas linhagens (Tabela 4). O ritmo de parasitismo foi variável entre as linhagens, sendo que *T. pretiosum* AR parasitou mais de 70% dos ovos no primeiro dia; estes resultados credenciam a linhagem *T. pretiosum* AR como um destaque dentre as 3 linhagens testadas.

Tabela 4 – Média diária de ovos parasitados (\pm SEM) observada nos quatro primeiros dias de parasitismo de três linhagens distintas de *Trichogramma*. Temp. 25 \pm 1°C, UR 70 \pm 10% e fotofase de 14h.

Dias	Média diária de parasitismo (\pm SEM)									
	<i>T. pretiosum</i>					<i>T. atopovirilia</i>				
	Linhagem AR*		Linhagem H2			Linhagem AR*		Linhagem H2		
D1	15,54	\pm 7,07	A ¹ a ²	3,07	\pm 4,65	Ca	7,71	\pm 6,04	Ba	
D2	3,08	\pm 3,2	Ab	3,4	\pm 3,96	Aa	0,44	\pm 0,89	Bb	
D3	0,38	\pm 0,76	Ac	3,27	\pm 3,97	Aa	1,8	\pm 3,18	Ab	
D4	0,46	\pm 0,77	Ac	2	\pm 4,53	Aa	2,08	\pm 1,7	Ab	

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula não diferem em relação às linhagens em um nível de 5% por meio do teste de Tukey. ²Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem em relação aos dias em um nível de significância de 5% por meio do teste de Tukey.

*Linhagem AR coletada na fazenda experimental Areão (Piracicaba - SP) e linhagem H2 coletada na região do Pontal do Paranapanema (Paranapanema - SP).

4.4 Biologia de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 linhagem AR e da isolinhagem de *T. remus* em ovos de *S. frugiperda* de laboratório

Observou-se que, a viabilidade das duas espécies no hospedeiro estudado é alta, indicando que ambas estão aptas a serem utilizadas como agentes de controle de *S. frugiperda* (Tabela 5).

Tabela 5 – Média de parasitismo total, viabilidade total, razão sexual, duração período (ovo-adulto), longevidade, número de adultos por ovo (\pm SEM) de *Trichogramma pretiosum* AR e isolinhagem de *Telenomus remus* em ovos de *Spodoptera frugiperda*. Temp. $25 \pm 1^\circ\text{C}$; UR $70 \pm 10\%$; fotofase 14h.

Parasitoide	Parasitismo total	Viabilidade total (%)	Razão sexual	Duração ovo-adulto (dias)	Longevidade (dias)	Nº Adultos por ovo
<i>T. pretiosum</i> AR	27,5 \pm 1,16	96,3 \pm 1,38	0,81 \pm 0,03	9,92 \pm 0,1	7,7 \pm 0,42	1,3 \pm 0,06
Isolinagem <i>T. remus</i>	151,5 \pm 10,6	96,2 \pm 6,2	0,6 \pm 0,1	15,28 \pm 2,8	14,2 \pm 2,7	1 \pm 0,02

Os resultados obtidos no estudo comparativo entre *T. pretiosum* linhagem AR, selecionada em 4.3, e a isolinhagem de *T. remus*, mostraram a superioridade da isolinhagem como potencial agente de controle biológico para *S. frugiperda*, pois apenas nas primeiras 24h ela parasitou 76,5 ovos:fêmea (Figura 1), valor maior do que o parasitismo total observado para *T. pretiosum* AR durante toda a sua vida, ou seja, 27,5 ovos:fêmea. A isolinhagem de *T. remus* parasitou 151,5 ovos ao longo de sua vida.

Apesar do parasitismo inferior, os indivíduos resultantes do parasitismo de *T. pretiosum* AR apresentaram alta viabilidade e até um número superior de indivíduos por ovo, mas o menor parasitismo não a credencia como potencial agente de controle biológico de *S. frugiperda*.

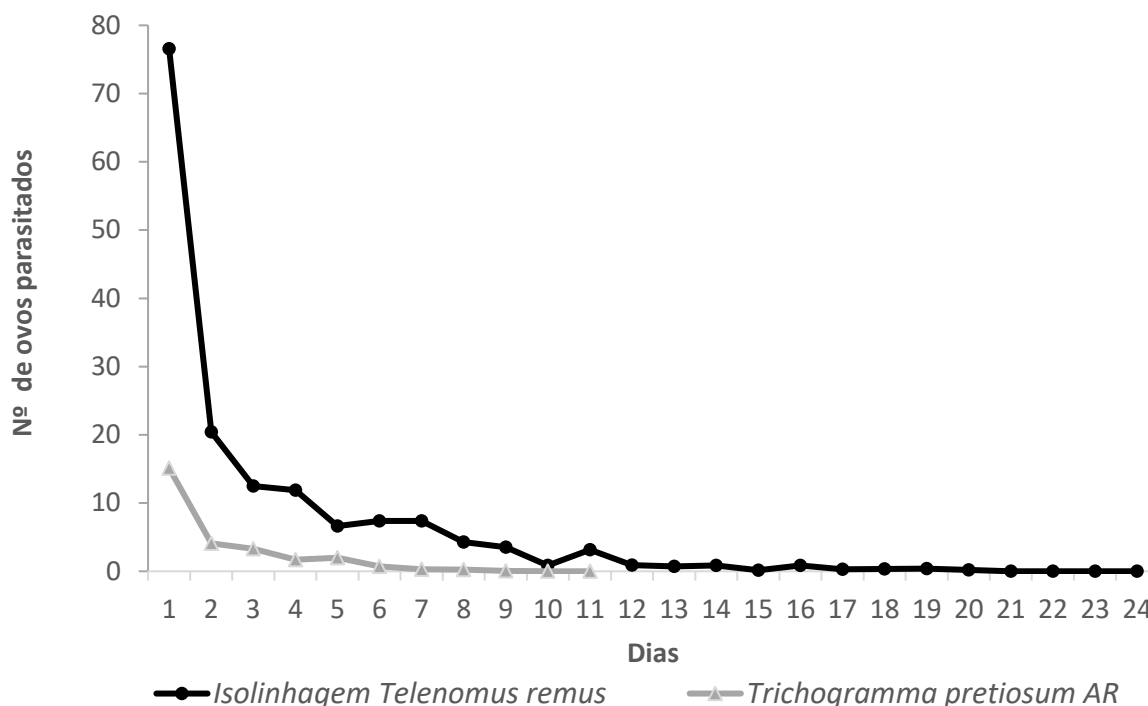


Figura 1 – Parasitismo diário da isolinhagem de *Telenomus remus* e *Trichogramma pretiosum* AR em ovos de *Spodoptera frugiperda*. Temp. $25 \pm 1^\circ\text{C}$; UR $70 \pm 10\%$; fotofase 14h

4.5 Determinação do número de *T. pretiosum* AR e da isolinhagem de *T. remus* a ser liberado por ovo de *S. frugiperda* de laboratório

Ao determinar o número ideal de fêmeas de *T. pretiosum* AR a ser liberado por ovo de *S. frugiperda*, pôde-se observar que, o número de ovos parasitados de *S. frugiperda* foi afetado de forma significativa pela quantidade de fêmeas de *T. pretiosum* AR liberada em cada tratamento ($F_{68,71} = 27,18$ $p < 0.05$). Houve aumento no número de ovos parasitados, proporcional ao aumento do número de fêmeas de *T. pretiosum* AR até o tratamento contendo 8 fêmeas, que foi aquele que apresentou maior número de ovos parasitados (66,7) (Figura 2). No tratamento contendo 12 fêmeas ocorreu um decréscimo do número de ovos parasitados para 49,2 ovos não diferindo, entretanto, estatisticamente do valor encontrado no tratamento com 4 fêmeas (46,7), talvez indicando um superparasitismo.

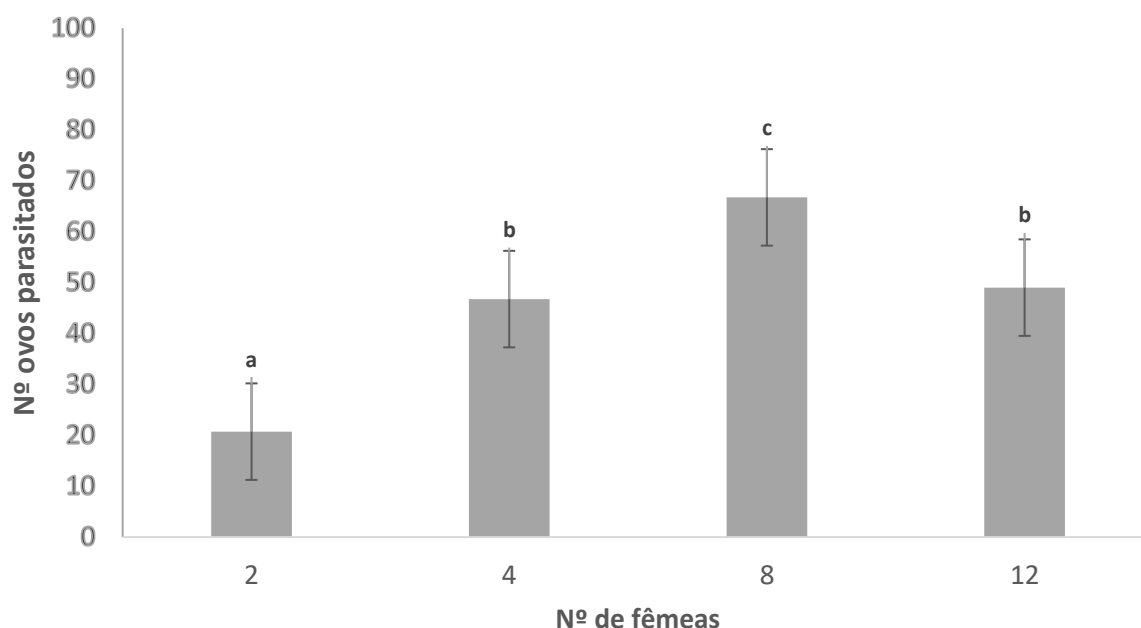


Figura 2 – Número de ovos de *Spodoptera frugiperda* parasitado por diferentes densidades de fêmeas de *Trichogramma pretiosum* AR. Temp. $25 \pm 1^\circ\text{C}$; UR $70 \pm 10\%$; fotofase 14h.
* Médias seguidas pela mesma letra não diferem em um nível de significância de 5% por meio do teste de Tukey.

A razão sexual de *T. pretiosum* AR foi afetada pela quantidade de fêmeas liberadas ($F_{68,71} = 8,52$ $p < 0.05$), sendo a razão sexual maior no tratamento contendo apenas duas fêmeas (Tabela 6).

Tabela 6 - Razão sexual (\pm SEM) de *Trichogramma pretiosum* AR observada em diferentes densidades de fêmeas (2,4,8 e 12) para um número fixo (50 ± 10) de ovos de *S. frugiperda*. Temp. $25 \pm 1^\circ\text{C}$; UR $70 \pm 10\%$; fotofase 14h.

Número Fêmeas	Razão sexual* (\pm SEM)			
2	0,84	\pm	0,02	a*
4	0,68	\pm	0,02	b
8	0,65	\pm	0,02	b
12	0,65	\pm	0,02	b

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem em um nível de significância de 5% por meio do teste de Tukey.

Ao determinar o número ideal de fêmeas da isolinhagem de *T. remus* a ser liberado por ovo de *S. frugiperda*, não foi encontrado efeito significativo do número de fêmeas de *T. remus* liberadas e a quantidade de ovos parasitados ($F_{127,133} = 2,27$ $p > 0.05$) (Figura 3).

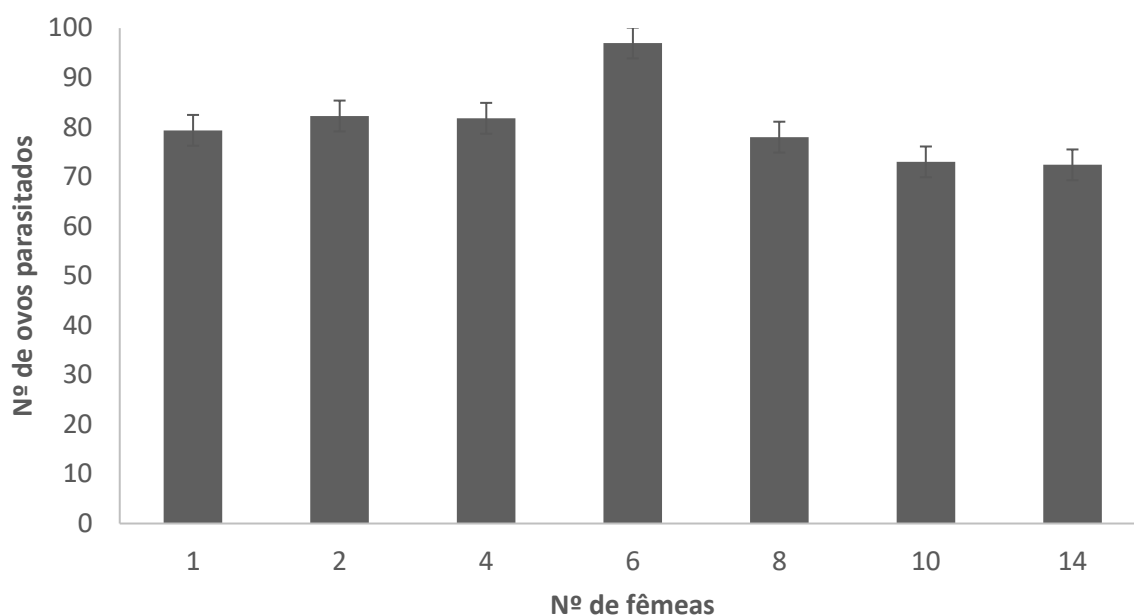


Figura 3 – Número de ovos de *Spodoptera frugiperda* parasitado por diferentes densidades de fêmeas de *Telenomus remus*. Temp. $25 \pm 1^\circ\text{C}$; UR $70 \pm 10\%$; fotofase 14h.

Assim como para *T. pretiosum* AR a razão sexual da isolinhagem de *T. remus* foi afetada significativamente pela quantidade de fêmeas liberadas em cada tratamento ($F_{121,127} = 51,49$ $p < 0.05$). Porém neste caso a razão sexual observada foi inversamente proporcional até o tratamento contendo 6 fêmeas, não havendo diferença entre as demais razões sexuais observadas a partir deste tratamento (Tabela 7), mantendo a mesma tendência de aumento de machos com o aumento de fêmeas oferecidas.

Tabela 7 - Razão sexual (\pm SEM) de *Telenomus remus* observada em diferentes densidades de fêmeas (1,2,4,6,8,10 e 14) para um número fixo (100 ± 15) de ovos de *Spodoptera frugiperda*. Temp. $25 \pm 1^\circ\text{C}$; UR $70 \pm 10\%$; fotofase 14h.

Número de fêmeas	Razão sexual*		
	(\pm SEM)		
1	0,82	\pm	0,01 a*
2	0,72	\pm	0,02 b
4	0,52	\pm	0,02 c
6	0,41	\pm	0,02 d
8	0,39	\pm	0,02 d
10	0,39	\pm	0,02 d
14	0,4	\pm	0,03 d

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem em um nível de significância de 5% por meio do teste de Tukey.

4.6 Capacidade de parasitismo de *T. pretiosum* AR nas camadas de ovos inferiores das posturas de *S. frugiperda* de laboratório

Observou-se, a partir das posturas utilizadas neste experimento que os ovos da camada inferior que estavam circundando a postura e, portanto, expostos, foram parasitados por *T. pretiosum* AR, enquanto os ovos que se encontravam também na camada inferior, porém sobrepostos pela camada superior não foram parasitados por *T. pretiosum* AR, ocorrendo a eclosão total das lagartas (Figuras 4). O mesmo resultado foi observado em todas as posturas avaliadas.

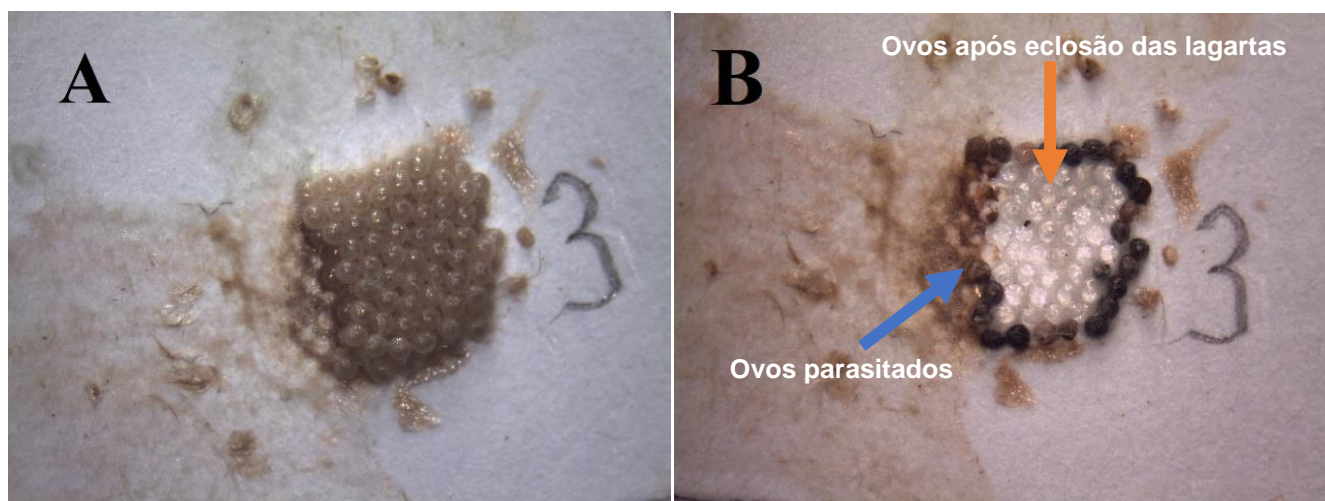


Figura 4 – Postura de *Spodoptera frugiperda* contendo duas camadas de ovos, oferecida a fêmeas de *Trichogramma pretiosum* AR, para verificar a capacidade dos parasitoides, em parasitar os ovos das camadas inferiores que estavam recobertas por outra camada de ovos A) Posturas de *S. frugiperda*, com duas camadas, antes de serem oferecidas ao parasitismo por *T. pretiosum* AR. B) Posturas de *Spodoptera frugiperda*, que tiveram sua camada superior retirada com auxílio de um pincel, 5 dias após o parasitismo, em que houve total eclosão das camadas inferiores que estavam sobrepostas, ocorrendo o parasitismo apenas nas posturas que estavam expostas circundando a postura.

4.7 Capacidade de voo da Isolinagem de *T. remus* em diferentes temperaturas e umidades relativas

Após a análise dos dados obtidos no teste de voo de *T. remus* em diferentes temperaturas, constatou-se através do modelo de Dirichlet-multinomial, que houve efeito significativo da temperatura sobre a capacidade de voo dos insetos (LR = 157,7951; gl = 12; p-valor < 0,001), ou seja, há diferença nas proporções de indivíduos voadores, caminhadores e não

voadores entre as diferentes temperaturas. A porcentagem de indivíduos voadores aumentou proporcionalmente com o incremento térmico, sendo o percentual mais alto de indivíduos voadores observado na faixa de temperatura de 25 a 30°C. No tratamento de 35°C houve um decréscimo significativo no percentual de indivíduos voadores (80%) (Tabela 8).

A resposta de indivíduos não voadores foi inversamente proporcional ao aumento de temperatura, sendo como consequência dos resultados para voadores, a faixa de 25 a 30°C a que apresentou as menores porcentagens de indivíduos não voadores.

Tabela 8 – Porcentagem média de indivíduos voadores (\pm SEM); não voadores e caminhadores da isolinhagem de *Telenomus remus* em ovos de *Spodoptera frugiperda* em 5 temperaturas e umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14h.

Temp.	% Voadores		% Caminhadores		% Não voadores	
18°C	18,2	a*	15,2	a	66,5	a
20°C	56,1	b	12,2	a	31,7	b
25°C	86,9	c	5,1	b	8,1	c
30°C	88,7	c	5,6	b	5,7	c
35°C	80,3	d	5,1	b	14,6	d

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem em um nível de significância de 5% por meio do teste de Tukey

Os resultados obtidos no teste de voo de *T. remus* em diferentes umidades relativas (UR) mostraram que houve efeito significativo (LR = 80,56; gl = 9; p-valor < 0,001) da umidade sobre a capacidade de voo dos insetos, ou seja, há diferença nas proporções de indivíduos voadores, caminhadores e não voadores entre as diferentes UR. A proporção de indivíduos voadores observados nos testes de UR foi semelhante àquela observada nos testes de temperatura (°C), aumentando proporcionalmente com o incremento da UR. As maiores UR, ou seja, 70 e 90% favoreceram a atividade de voo da isolinhagem de *T. remus*.

Tabela 9 – Porcentagem média de indivíduos voadores (\pm SEM); não voadores e caminhadores da isolinhagem de *Telenomus remus* em ovos de *Spodoptera frugiperda* em quatro umidades relativas (UR) e temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotofase de 14h.

UR	% Voadores		% Caminhadores		% Não voadores	
30%	51,7	a*	7,9	a	40,4	a
50%	77,6	b	9,0	ab	13,4	b
70%	87,5	c	5,2	ac	7,3	c
90%	88,5	c	6,5	abc	4,9	c

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem em um nível de significância de 5% por meio do teste de Tukey

4.8 Testes de liberação da isolinhagens de *T. remus* e *T. pretiosum* AR em condições de semi-campo para o controle de *S. frugiperda*

Os tratamentos utilizados no teste de liberação: i) 6 *T. remus* + 8 *T. pretiosum*, ii) 14 *T. remus* + 8 *T. pretiosum*, iii) 6 *T. remus*, iv) 14 *T. remus* e v) 8 *T. pretiosum* alteraram de forma significativa (LR = 45,98; gl = 4; P= <0,001) o percentual de ovos de *S. frugiperda* parasitados. Os maiores percentuais de parasitismo, foram observados nos tratamentos 14 *T. remus*; 6 *T. remus* + 8 *T. pretiosum* e 14 *T. remus* + 8 *T. pretiosum* (Figura 5), porém não houve diferença significativa entre os três tratamentos, mostrando que a liberação das duas espécies de parasitoides de forma conjunta (associada), não aumentou de forma significativa o potencial de controle de *S. frugiperda* em comparação ao tratamento em que apenas a isolinhagem de *T. remus* foi liberada, não ocorrendo, portanto, sinergismo na associação de parasitismo utilizada. No tratamento em que apenas *T. pretiosum* AR foi liberado o percentual de controle foi de apenas 10%, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos (Figura 5).

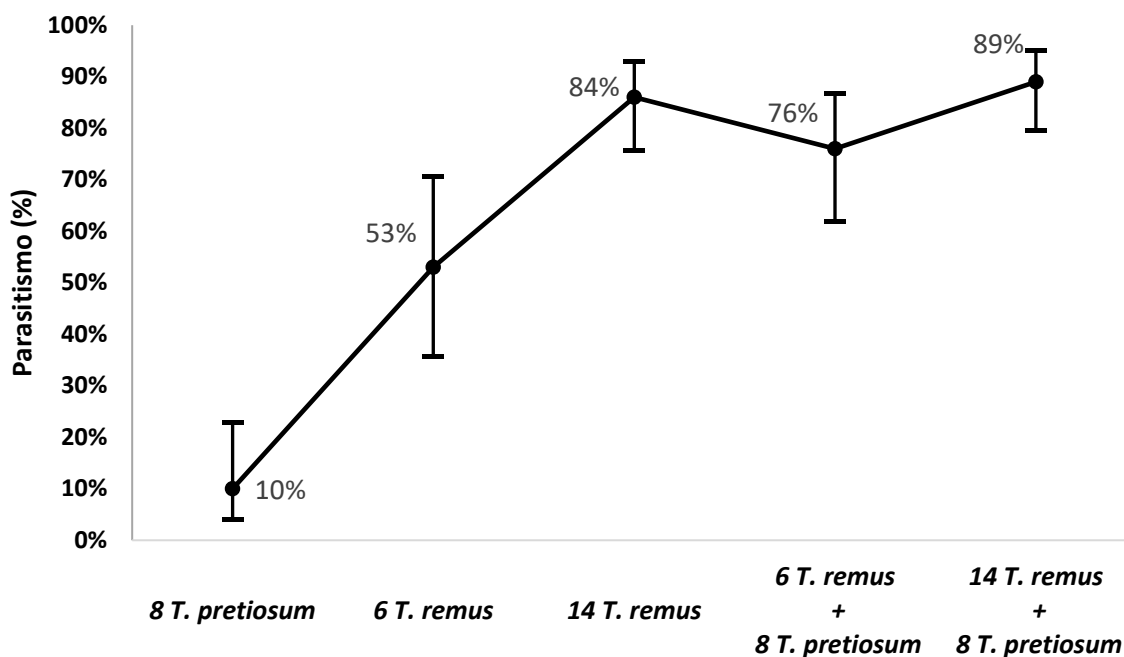


Figura 5 – Porcentagem de parasitismo observada em posturas de *Spodoptera frugiperda* após serem expostas ao parasitismo na condição de semi-campo aos tratamentos i) 6 *T. remus* + 8 *T. pretiosum*, ii) 14 *T. remus* + 8 *T. pretiosum*, iii) 6 *T. remus*, iv) 14 *T. remus* e v) 8 *T. pretiosum*. A semelhança entre os tratamentos, pode ser observada pelo seu intervalos de confiança.

*Para *Telenomus remus* foram liberados 6 ou 8 fêmeas para 100 ovos de *Spodoptera frugiperda* e para *Trichogramma pretiosum* AR foram liberadas 8 fêmeas para 50 ovos de *Spodoptera frugiperda*. Médias que apresentam sobreposição do intervalo de confiança não diferem em um nível de significância de 5%. Temperatura variável de 20 a 38 °C e UR de 45 a 80%.

Nos tratamentos em que as duas espécies de parasitoide foram utilizadas de forma conjunta (6 *T. remus* + 8 *T. pretiosum* e 14 *T. remus* + 8 *T. pretiosum*) foi quantificado o número de ovos parasitados por cada espécie, a fim de melhor compreender seu papel no controle de *S. frugiperda* (Figura 6). Em ambos os tratamentos a isolinhagem de *T. remus* parasitou um número superior de ovos de *S. frugiperda* em relação a *T. pretiosum* AR, demonstrando o maior potencial de controle da espécie. No tratamento em que *T. remus* foi liberado em densidade mais alta (14 *T. remus*) a diferença observada entre o desempenho das duas espécies foi ainda maior (Figura 6).

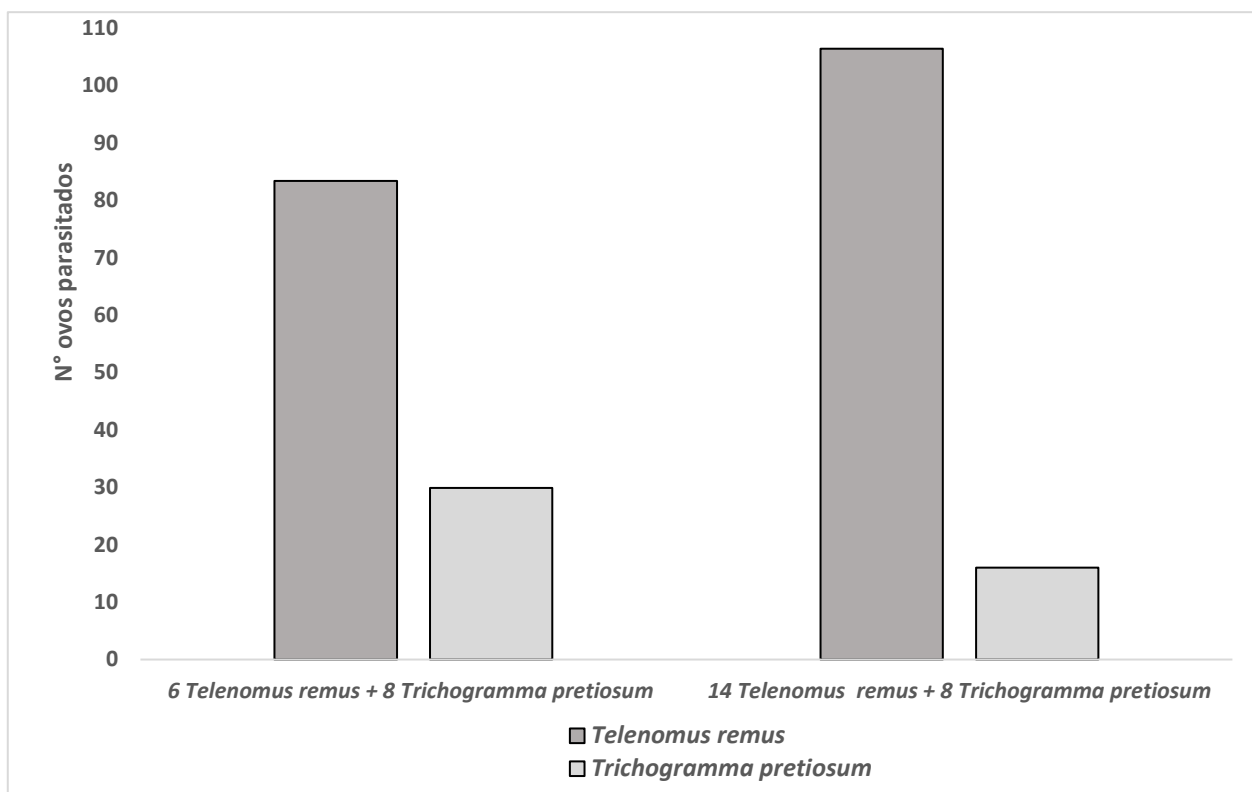


Figura 6 – Número médio de ovos de *Spodoptera frugiperda* em milho parasitados pela isolinhagem de *Telenomus remus* e de *Trichogramma pretiosum* AR, nos tratamentos 6 *T. remus* + 8 *T. pretiosum* e 14 *T. remus* + 8 *T. pretiosum*, em liberação de semi-campo.

*Para *Telenomus remus* foram liberadas 6 ou 14 fêmeas para 100 ovos de *Spodoptera frugiperda*, e para *Trichogramma pretiosum* AR foram liberadas 8 fêmeas para 50 ovos de *Spodoptera frugiperda*.

5. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS

5.1 Comparação entre a linhagem de *Telenomus remus* Nixon, 1937 mantida em laboratório e a isolinhagem da espécie com relação à capacidade de voo e parasitismo

Os resultados obtidos demonstraram que a capacidade de voo da isolinhagem foi superior à linhagem de laboratório (Tabela 1), porém, não houve diferença entre suas capacidades de parasitismo (Tabela 2).

Apesar de existirem diversos trabalhos analisando possíveis diferenças comportamentais e biológicas entre linhagens de inimigos naturais selvagens e de laboratório (Awan et al. 1990, Colazza et al. 1999, Pratissoli and Parra 2001, Colazza and Rosi 2013, Coelho Jr. et al. 2016), este foi o primeiro trabalho que comparou parâmetros biológicos de uma linhagem de *T. remus* mantida por mais de 60 gerações em laboratório (com variabilidade genética desconhecida) e uma isolinhagem (Nunney 2003, Coelho Jr. et al. 2016).

Com base nos resultados obtidos, pode-se observar que a proporção de indivíduos voadores da Isolinhagem (80%), foi significativamente maior do que a da linhagem comum de laboratório (30%), mostrando que o processo de seleção de indivíduos com caracteres favoráveis e a seleção de uma isolinhagem a partir destes indivíduos foi capaz de manter o haplótipo responsável pela boa capacidade de voo dentro da população. Este resultado vem de encontro com os resultados encontrados por Naranjo-Guevara et al. (2020) que avaliaram a capacidade de voo de uma linhagem “selvagem” de *T. remus* e outra linhagem mantida em laboratório por mais de 500 gerações e constataram que a proporção de indivíduos voadores observada para cada linhagem era de 87% e 34%, respectivamente.

Populações de inimigos naturais selvagens quando coletadas e mantidas em condições artificiais de laboratório, podem sofrer um processo natural de seleção por características biológicas que favoreçam o seu desempenho naquele ambiente (Roush and Hopper 1995, Parra et al. 2015, Coelho Jr. et al. 2016). Como geralmente o ambiente encontrado em criações de laboratório costuma ser diferente das condições encontradas em campo, a manutenção dos inimigos naturais por longos períodos, nesses ambientes, pode afetar sua qualidade e desempenho (van Lenteren 2003).

A perda da qualidade de inimigos naturais, ocasionada pelo ambiente de criação pode inclusive ser o fator responsável por alguns relatos de insucesso na utilização de *T. remus* como agente de controle de *S. frugiperda*. Varela et al. (2015) relataram que a liberação de aproximadamente 200.000 *T. remus* por hectare em campos de milho, não tiveram efeito significativo sobre a mortalidade de *S. frugiperda*. No entanto, a linhagem utilizada neste trabalho havia sido mantida em laboratório por mais de 20 anos o que, conseqüentemente afetou sua capacidade de parasitismo, como observado por Bueno et al. (2010b), que registrou o parasitismo de 35.7 ovos dessa mesma população de *T. remus*, valor muito abaixo do encontrado para linhagem utilizada no presente estudo (151,5 ovos parasitados).

Estes resultados enfatizam a importância da criação de estratégias que evitem ou amenizem a perda de qualidade de inimigos naturais em decorrência do seu ambiente de criação (Nunney 2003). A seleção da isolinhagem de *T. remus*, utilizada neste trabalho, foi capaz de preservar a boa capacidade de voo dentro da população, sem que o estreitamento genético causado pelo processo de seleção afetasse outra característica importante para o seu desempenho em campo, o parasitismo.

5.2 Diferenças morfológicas entre posturas de *S. frugiperda* obtidas em campo e em laboratório

O número de ovos encontrados nas posturas de *S. frugiperda* em campo e em laboratório, não diferiu de forma significativa, porém o número de camadas e a área das posturas variou de acordo com ambiente em que as posturas foram coletadas (Tabela 3).

As posturas de campo apresentaram número de camadas superior às posturas de laboratório, embora todas elas tenham se aproximado de duas camadas. O maior número de camadas observado em posturas de campo, provavelmente, se deve ao fato da concentração de posturas de *S. frugiperda* ocorrer nos estágios iniciais de desenvolvimento do milho (Cruz and Turpin 1982, Beserra et al. 2002), quando as folhas são menores. Como o número de ovos por postura nas condições estudadas (campo e laboratório) foi constante, mas o número de camadas e a área das posturas é variável, é provável que folhas mais jovens e, portanto, com menor área, apresentem menor espaço

para abrigar as posturas, obrigando as mariposas a colocarem posturas com maior número de camadas em uma área menor. No campo as posturas são colocadas geralmente sobre a superfície da folha do milho, que apresenta uma série de irregularidades e obstáculos, enquanto em laboratório as posturas são colocadas sobre uma superfície plana e sem irregularidades (papel sulfite), permitindo que nessa condição posturas com menor número de camadas e dispostas em uma área maior possam ser colocadas pelas mariposas.

A configuração da postura é de extrema importância, pois ela irá influenciar o desempenho do parasitoide. Por exemplo, posturas com menor número de camadas e com ovos espalhados sobre uma área maior, apresentam mais ovos expostos quando comparado a posturas que apresentam um maior número de camadas sobrepostas, em uma menor área. Essa é uma característica extremamente importante, por exemplo para parasitoides do gênero *Trichogramma*, que são incapazes de parasitar ovos em camadas sobrepostas (Cave 2000, Beserra and Parra 2005), parasitando somente ovos expostos na superfície da postura (Beserra and Parra 2005).

5.3 Eficiência de parasitismo de três linhagens de *Trichogramma* em ovos de *S. frugiperda* de laboratório

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, pode-se observar que a linhagem com maior eficiência de parasitismo foi a linhagem *T. pretiosum* AR, coletada em ovos de *S. frugiperda* na fazenda Areão em Piracicaba, SP (22° 43' 30" S, 47° 38' 56" W, altitude 554 m) (Clima tropical de altitude, Köppen Cwa), seguida da linhagem *T. atopovirilia* coletada em São José dos Pinhais, PR (25° 32' 06" S, 49° 12' 21" W, altitude 906 m) (Clima temperado oceânico, Köppen Cfb) em ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) e por último *T. pretiosum* H2 coletado em Paranapanema, SP (23° 23' 20" S, 48° 43' 22" W) (Clima subtropical, Köpper Cfa) em posturas de *S. frugiperda* (Tabela 4).

Os resultados observados diferem dos resultados obtidos por Beserra e Parra (2004), que descrevem *T. atopovirilia* como a espécie que apresenta maior capacidade de parasitismo em ovos de *S. frugiperda* em relação a *T. pretiosum*. A diferença entre os resultados obtidos nos dois trabalhos, está

provavelmente associada a variabilidade intraespecífica que pode ocorrer entre populações de indivíduos de uma mesma espécie (Boivin and Brodeur 2007). Parasitoides de uma mesma espécie, mas que oriundos de regiões com características climáticas e ambientais diferentes, costumam apresentar características biológicas distintas, provavelmente por terem sido expostos a pressões evolutivas diferentes (Bleicher and Parra 1989, Hassan 1989, Coelho Jr. et al. 2016, Naranjo-Guevara et al. 2020). Geralmente costuma-se denominar populações com parâmetros biológicos distintos dentro de uma mesma espécie como linhagens. Coelho et al. (2016) usando testes de voo em laboratório, compararam a capacidade de voo de duas linhagens de *T. pretiosum*, uma coletada nos EUA (clima temperado) e outra coletada no Brasil (clima subtropical) e verificaram que a linhagem brasileira apresentava uma porcentagem significativamente menor de indivíduos voadores quando comparada à linhagem americana nas condições de baixa umidade relativa (30%), típicas da região onde a linhagem americana havia sido coletada.

Segundo Parra et al. (2015) variações intraespecíficas encontradas em *Trichogramma* configuram um parâmetro importante a ser avaliado e considerado dentro de um programa de controle biológico, podendo levar ao seu sucesso ou fracasso. Na literatura, diversas linhagens de *Trichogramma* são descritas com base nas diferenças de seus parâmetros biológicos como, capacidade de voo, preferência por hospedeiro, capacidade de parasitismo e tolerância a condições ambientais (Cerutti and Bigler 1995, Bouchier and Smith 1996, Fournier and Boivin 2000, Coelho Jr. et al. 2016, Coelho et al. 2018). Neste trabalho a variabilidade intraespecífica pode também ser observada nas linhagens AR e H2, que apesar, de pertencerem à mesma espécie, apresentaram eficiência de parasitismo em ovos de *S. frugiperda* que diferem significativamente.

Outro fator importante que pode ter influenciado a eficiência de parasitismo das linhagens é o histórico de hospedeiros de cada população e o seu conseqüente condicionamento pré-imaginal (Vinson 1998). A linhagem *T. atopovirilia* utilizada neste estudo foi coletada em campo em postura de *H. zea* enquanto as linhagens de *T. pretiosum* AR e H2 foram coletadas em posturas de *S. frugiperda*. Apesar de todas as linhagens terem sido criadas por uma geração em ovos de *S. frugiperda*, com intuito de evitar o condicionamento pré

imaginal, é possível que a linhagem estudada de *T. atopovirilia* ainda apresentasse algum tipo de adaptação ou condicionamento ao seu antigo hospedeiro sobre o qual foi coletada em campo. Também é importante ressaltar que a linhagem *T. atopovirilia* utilizada permaneceu por mais de 5 anos sob condições de laboratório enquanto as linhagens de *T. pretiosum* AR e H2, foram mantidas por menos de cinco gerações em laboratório.

5.4 Biologia de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 linhagem AR e da isolinhagem de *T. remus* em ovos de *S. frugiperda* de laboratório

Considerando-se o período de desenvolvimento (9,92 dias para *T. pretiosum* AR e 15,3 dias para isolinhagem de *T. remus*) e viabilidade (96% *T. pretiosum* e 96% isolinhagem de *T. remus*) observados no estudo de biologia das duas espécies, a presente pesquisa confirma a adequação de *S. frugiperda* como hospedeiro dos parasitoides (Tabela 5). Esta adequação hospedeira já era esperada, visto que *S. frugiperda* é descrita como hospedeiro natural de *T. remus* (Cave 2000) e diferentes autores citam *T. pretiosum* como potencial agente de controle da referida praga (Schwartz and Gerling 1974, Alvarez and Roa 1995, Figueiredo et al. 2002, García-Roa et al. 2002, Beserra and Parra 2004). Ressalta-se ainda que os valores observados para os dois parâmetros na presente pesquisa, corroboram com valores descritos em diferentes estudos para as duas espécies de parasitoide em ovos de *S. frugiperda* (Gautam 1986, Beserra and Parra 2004, Bueno et al. 2008, Bueno, Bueno, et al. 2010, Naranjo-Guevara et al. 2020). A razão sexual e a longevidade média de *T. pretiosum* AR e da isolinhagem encontradas também estão próximas dos valores mencionados nos artigos citados.

O potencial de parasitismo observado no estudo da biologia das duas espécies (27 ovos *T. pretiosum* AR e 151,5 ovos para isolinhagem de *T. remus*) comprovou que a isolinhagem de *T. remus* apresenta capacidade de parasitismo superior a *T. pretiosum* AR em ovos de *S. frugiperda*, ressaltando o enorme potencial que *T. remus* apresenta como agente de controle desse inseto-praga. As médias de parasitismo observadas para isolinhagem de *T. remus* e *T. pretiosum* AR no estudo da biologia vão de encontro com as médias descritas para cada espécie de parasitoide em ovos de *S. frugiperda* em

diferentes estudos (Beserra and Parra 2004, Meirelles et al. 2009, Naranjo-Guevara et al. 2020), com um aspecto interessante pois o número de indivíduos que sai por ovo de *T. pretiosum* (1:3) é maior do que aquele encontrado na isolinhagem de *T. remus* (1,0) (Tabela 5)

O tamanho dos ovos de *S. frugiperda* permitiu o desenvolvimento de mais de um indivíduo de *T. pretiosum* AR por ovo da praga, observando-se a emergência de até 3 indivíduos de um único ovo, porém estes sempre apresentavam tamanho reduzido em função da competição indireta causada pelos imaturos dentro do hospedeiro (Suzuki et al. 1984). O número médio de adultos emergidos por ovo foi de 1,3, valor este que vai de encontro com o valor descrito por Beserra e Parra (2004). No caso da isolinhagem de *T. remus* foi observado apenas a emergência de um adulto por ovo de *S. frugiperda*, corroborando com observações feitas em outros trabalhos (Schwartz and Gerling 1974, Cave 2000, Colmenarez et al. 2022)

Até o presente momento, este é o primeiro trabalho que realizou o estudo da biologia de uma isolinhagem de *T. remus*. Os parâmetros biológicos determinados neste estudo serviram como base para o planejamento e análises dos demais teste realizados na presente pesquisa.

5.5 Determinação do número de *T. pretiosum* AR e da isolinhagem de *T. remus* a ser liberados por ovo de *S. frugiperda* de laboratório

Observando-se a curva obtida no teste de densidade verifica-se que o número ótimo de *T. pretiosum* AR a ser liberado para cada 50 ± 10 ovos de *S. frugiperda* foi de 8 fêmeas, após essa quantidade a adição de mais fêmeas levou a queda da eficiência de parasitismo (Figura 2). O decréscimo na eficiência de parasitismo observado no tratamento contendo 12 fêmeas, provavelmente se deu, devido ao maior número de encontro entre os parasitoides ou a disputa entre fêmeas pelo hospedeiro, levando a uma menor eficiência de busca e taxa de parasitismo (Beddington 1975, Hassell and Waage 1984). Uma alta densidade de fêmeas pode aumentar a ocorrência de superparasitismo, o que iria aumentar o tempo de busca dos parasitoides e conseqüentemente diminuir sua capacidade de parasitismo (Visser et al. 1999, Harvey et al. 2013)

A razão sexual de *T. pretiosum* AR foi afetada pelo número de fêmeas presente em cada tratamento, diminuindo conforme a quantidade de fêmeas a partir de 2 fêmeas (Tabela 6). A redução da razão sexual de *T. pretiosum* em função ao aumento da densidade de fêmeas também é descrito por Kfir (1983).

Diferentemente de *T. pretiosum* AR, a densidade de fêmeas da isolinhagem de *T. remus* utilizada em cada tratamento não influenciou de forma significativa as médias de parasitismo (Figura 3). Embora não possa afirmar o fator responsável pelo resultado observado, estudos relatam que *T. remus* é uma espécie que evita o superparasitismo (Gerling and Schwartz 1974, Cave 2000, Carneiro and Fernandes 2012), uma vez que esse comportamento pode afetar negativamente a sua eficiência de parasitismo (Visser et al. 1999, Harvey et al. 2013).

A razão sexual de *T. remus* por outro lado, sofreu grande influência do aumento do número relativo de fêmeas em cada tratamento a partir de 6 fêmeas (Tabela 7). A diminuição da razão sexual de *T. remus*, tendendo a uma prole com mais machos, na presença de uma alta densidade de fêmeas é descrito por diversos autores (Flanders 1939, Schwartz and Gerling 1974, van Welzen and Waage 1987). Deste modo a proporção fêmea:hospedeiro é fator chave que deve ser considerado em ambientes de criação que visem a produção desse agente de controle, caso contrário corre-se o risco de se liberar populações contendo muitos machos, que não são eficientes para o controle biológico.

5.6 Capacidade de parasitismo de *T. pretiosum* linhagem AR nas camadas de ovos inferiores das posturas de *S. frugiperda* de laboratório

Os resultados observados neste experimento (Figura 4) confirmam a incapacidade de *T. pretiosum* parasitar ovos em camadas sobrepostas em posturas de *S. frugiperda*, conforme observado também por outros autores (Cave 2000, Beserra and Parra 2005, Bueno et al. 2008). Dado ao fato de *T. pretiosum* ser menor do que *T. remus*, acreditava-se que *T. pretiosum* conseguisse penetrar mais facilmente as camadas superiores das posturas, porém o que se constatou é que o tricogramatídeo por ser menor, possui menor

robustez do que *T. remus*, encontrando grande dificuldade em ultrapassar pequenos resíduos de escamas que frequentemente são observados entre os ovos nas posturas de *S. frugiperda*. Mesmo que as escamas presentes sobre as posturas tenham sido retiradas com auxílio de um pincel, alguns resíduos das escamas inevitavelmente permaneciam sobre as posturas e entre os ovos, o que já era o suficiente para dificultar a locomoção e parasitismo de *T. pretiosum*.

5.7 Capacidade de voo da Isolinagem de *T. remus* em diferentes temperaturas e umidades relativas

Observando-se os resultados do teste de voo em diferentes temperaturas, nota-se que a porcentagem de indivíduos voadores aumentou proporcionalmente ao incremento de temperatura até atingir 30°C (Figura 7), com uma maior capacidade de voo entre 25 e 30°C. A queda significativa do percentual de indivíduos voadores na temperatura de 35°C, provavelmente foi causada pela proximidade do limiar térmico superior do inseto, que é de 35,9°C (Marília C. de Melo dados não publicados).

Os resultados obtidos neste trabalho para o teste de voo a 25°C estão muito próximos dos valores encontrados por Naranjo-Guevara et al. (2020) para a mesma temperatura. Em seu trabalho a autora encontrou uma porcentagem de 87% de indivíduos voadores e aproximadamente 8% e 5% de indivíduos caminhadores e não voadores, respectivamente, valores próximos aos observados na presente pesquisa, entre 87 e 89% (Tabela 8).

Nos testes de voo em diferentes umidades relativas a porcentagem de indivíduos voadores aumentou conforme o aumento da umidade relativa (Figura 8), demonstrando a extrema importância que a umidade exerce sobre a capacidade de voo de *T. remus*. Cave (2000) menciona umidade relativa do ar como um dos fatores abióticos mais importantes na criação de *T. remus*. Gupta & Pawar (1985) e Gautum (1986) demonstraram em seus trabalhos, que altos níveis de umidade relativa estão associados também a uma maior taxa de parasitismo pela espécie, o que indica que as condições ótimas de umidade para *T. remus* estejam provavelmente associadas a altas taxas de umidade relativa, como as encontradas na presente pesquisa entre 87,5 e 88,5% (Tabela 9).

5.8 Testes de liberação da isolinhagem de *T. remus* e *T. pretiosum* AR em condições de semi-campo para o controle de *S. frugiperda*

Os resultados dos testes de liberações dos parasitoides isolados indicam menor percentual de parasitismo (10%) por *T. pretiosum* AR em relação a isolinhagem *T. remus*, independente da densidade de *T. remus* liberada (Figura 5). Este resultado está provavelmente relacionado a diversos fatores que já foram discutidos anteriormente neste trabalho, como a incapacidade de *T. pretiosum* AR parasitar camadas inferiores das posturas de *S. frugiperda*, conforme demonstrado no item 4.6; a dificuldade encontrada pelo parasitoide em parasitar posturas com escamas (Cave 2000, Beserra e Parra 2003); e o condicionamento pré-imaginal ao hospedeiro de criação, uma vez que *T. pretiosum* AR, em criações artificiais, é mantido em *A. kuehniella* (Vinson 1998).

Nos tratamentos onde somente a isolinhagem de *T. remus* foi liberada, a densidade de 14 fêmeas para cada 100 ovos de *S. frugiperda* apresentou maior percentual de parasitismo (84%). Queiroz et al. (2017) ao realizarem liberações de *T. remus* em condições similares às deste experimento, relataram como densidade ideal de liberação 0,133 e 0,150 fêmeas por ovo de *S. frugiperda*, ou seja, 13 a 15 fêmeas para cada 100 ovos, entretanto observaram percentuais de parasitismo inferiores aos observados neste trabalho em ambas as densidades, ou seja, 65% e 71%, respectivamente. Nos experimentos realizados por Queiroz et al. (2017) *T. remus* foi criado no hospedeiro alternativo *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865) o que pode ter afetado sua capacidade de parasitismo, já que *T. remus* criado em *C. cephalonica* costuma ter seu potencial biótico reduzido quando comparado àqueles criados em *S. frugiperda* (Kumar et al. 1986, Queiroz et al. 2017).

Observando-se os tratamentos em que as espécies de parasitoides foram liberadas em conjunto, nota-se um aumento no percentual de parasitismo em relação às mesmas densidades de cada espécie de parasitoide liberadas de forma isolada, porém a não diferença significativa observada entre os tratamentos (6 *T. remus* + 8 *T. pretiosum* e 14 *T. remus* + 8 *T. pretiosum*), indica que a liberação das duas espécies de parasitoide de forma conjunta não tem efeito sinérgico sobre o potencial de controle de *S. frugiperda*. Este resultado fica ainda mais evidente quando observam-se o número de ovos parasitados

para cada espécie. Quando a densidade de *T. remus* liberada era menor (6), o número médio de ovos parasitados por *T. pretiosum* AR (30) equivalia a aproximadamente 26% do total de ovos parasitados, porém com o aumento da densidade de fêmeas de *T. remus* (14) liberadas, a quantidade de ovos parasitados por *T. pretiosum* AR (16) foi de apenas 13% do total (Figura 6). Além disso, a diferença entre valores de parasitismo encontrados pode ser explicada pela capacidade de busca do hospedeiros de cada espécie dos parasitoides, uma vez que o comportamento de parasitismo de *T. remus* é estimulado por compostos presentes nas posturas de *S. frugiperda*, porém o mesmo não ocorrendo com *T. pretiosum* (Nordlund et al. 1987).

Considerando os resultados encontrados, a utilização da isolinhagem de *T. remus* de forma isolada, na densidade de 14: 100 (fêmeas: ovos), conferiu maior controle de *S. frugiperda*. Com base nesta proporção, a média de ovos encontrados por posturas de campo (aprox. 150) (item 4.2), a densidade de plantio e dados de amostragem é possível estimar o número de *T. remus* que precisariam ser liberados em uma determinada área para o controle de *S. frugiperda*. Baseando-se em Beserra e Parra (2004), foram registradas posturas de *S. frugiperda* em oito plantas de milho em uma amostragem de 250 plantas, em uma área de dois hectares, realizada entre o 14^o ao 38^o dia após o plantio da cultura. Assim, sugere-se que, se considerarmos uma área de um hectare de milho contendo 50.000 plantas e em uma amostragem de 100 plantas forem encontradas quatro plantas com posturas de *S. frugiperda*, seria possível supor que nesta área há 2.000 posturas; considerando-se que cada uma delas tenha uma média de 150 ovos, o que leva ao total de 300.000 ovos neste hectare. Com base na densidade encontrada neste trabalho (14♀ de *T. remus* :100 ovos da praga), seriam necessárias 42.000 fêmeas ou considerando-se a razão sexual encontrada no estudo da biologia da isolinhagem de *T. remus* (item 4.4, correspondente a 0,6), 70.000 adultos para o manejo do inseto-praga. Como se trata do primeiro trabalho realizado com a isolinhagem de *T. remus*, não é possível a comparação com outros estudos que recomendaram valores entre 5.000 e 200.000 parasitoides/há (Colmenarez et al. 2022). No entanto estudos adicionais de validação em campo são necessários para garantir que a proporção encontrada, assim como a metodologia proposta seja validada.

Além disso, fatores como momento e frequência de liberação também são fundamentais e precisam ser determinados antes que *T. remus* possa ser utilizado como agente de controle biológico aumentativo de *S. frugiperda*. Para determinar os fatores mencionados é importante que a biologia da praga e a fenologia da cultura sejam levadas em consideração (Sá and Parra 1993).

No milho, posturas de *S. frugiperda* são encontradas em maior quantidade nos estágios fenológicos iniciais da cultura, diminuindo conforme a planta atinge os estágios mais avançados (Cruz e Turpin 1982, Beserra et al. 2002). Os primeiros adultos de *S. frugiperda* aparecem logo após a emergência das primeiras plantas, e são encontrados em maior quantidade a partir do 10° ao 41° dia após a emergência (Gutiérrez-Martínez et al. 1989). As condições tropicais brasileiras e a predominância de cultivos em grandes áreas ao longo do ano todo, permite que *S. frugiperda* se mantenha na mesma área, sem que haja a necessidade de migrar em busca de alimento e, portanto, já estando presente logo no início do ciclo da cultura. Segundo Dequech et al. (2013) as primeiras posturas de *S. frugiperda* já podem ser encontradas quatro dias após a emergência das plantas.

Dessa forma as liberações da isolinhagem de *T. remus* devem ocorrer logo após a emergência do milho, assim que as primeiras posturas de *S. frugiperda* forem encontradas. Estudos ainda são necessários para se determina a quantidade de liberações e sua frequência.

6. CONCLUSÕES

- O método de seleção de isolinhagens de *Telenomus remus* Nixon, 1937 utilizado neste experimento é capaz de preservar haplótipos responsáveis pela boa capacidade de voo dentro da população, sem que haja interferência em sua eficiência de parasitismo e degeneração ao longo das gerações;
- Mesmo a linhagem selecionada de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 AR não é competitiva com a isolinhagem de *T. remus* em relação ao parasitismo de ovos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797);
- *T. pretiosum* AR se limita a parasitar as camadas externas das posturas de *S. frugiperda*, parasitismo este dificultado pelas escamas destas posturas, estas variáveis com relação ao número de camadas e área ocupada, para insetos criados em campo e laboratório, embora semelhantes em relação ao número de ovos por postura (em torno de 150 ovos);
- A associação de *T. pretiosum* AR e a isolinhagem de *T. remus* não resulta em ação sinérgica no controle de *S. frugiperda*;
- A isolinhagem de *T. remus* isoladamente pode ser utilizada para controle de *S. frugiperda* na base de 14 fêmeas para 100 ovos de *S. frugiperda*;
- A isolinhagem citada tem maior capacidade de voo na faixa de 25 a 30°C e na UR de 70 a 90%;
- A relação utilizada de fêmeas de *T. remus* liberadas por ovo do hospedeiro pode afetar a razão sexual do agente de controle biológico produzindo menos fêmeas do parasitoide.

REFERÊNCIAS

- Akaike, H. 1974.** A new look at the statistical model identification. *IEEE Trans. Automat. Contr.* 19: 716–723.
- Alvarez, L. R., and Y. F. G. Roa. 1995.** Comportamiento parasítico de *Telenomus* sp. en *Spodoptera frugiperda*. *Rev. Colomb. Entomol.* 21: 191–197.
- Ashley, T. R. 1986.** Geographical distributions and parasitization levels for parasitoids of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. *Florida Entomol.* 69: 516–524.
- Awan, M. S., L. T. Wilson, and M. P. Hoffmann. 1990.** Comparative biology of three geographic populations of *Trissolcus basalus* (Hymenoptera: Scelionidae). *Environ. Entomol.* 19: 387–392.
- Beddington, J. R. 1975.** Mutual Interference Between Parasites or Predators and its Effect on Searching Efficiency Author (s): J . R . Beddington Source : *Journal of Animal Ecology* .44:331-340 Published by : British Ecological Society *Stabl. Br. Ecol. Soc.* 44: 331–340.
- Beserra, E. B., C. T. D. S. Dias, and J. R. P. Parra. 2002.** Distribution and Natural Parasitism of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera : Noctuidae) Eggs at Different Phenological Stages of Corn Florida Entomological Society is collaborating with JSTOR to digitize , preserve and extend access to The December DISTR. *Florida Entomol.* 85: 588–593.
- Beserra, E. B., and J. R. P. Parra. 2003.** Parasitism behavior of *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner and *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) in *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae) egg masses\rComportamento de parasitismo de *Trichogramma*. *Rev. Bras. Entomol.* 47: 205–209.
- Beserra, E. B., and J. R. P. Parra. 2004.** Biologia e parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner Biologia e parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner e119 *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em ovos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lep. Rev. Bras. Entomol. 47: 205–209.
- Beserra, E. B., and J. R. P. Parra. 2005.** Impact of the number of *Spodoptera frugiperda* egg layers on parasitism by *Trichogramma atopovirilia*. *Sci. Agric.* 62: 190–193.
- Bleicher, E., and J. roberto. Parra. 1989.** Espécies de *Trichogramma* parasitoide de *Alabama argillacea*. *Pesqui. Agropecuária Bras.* 1879: 929–940.
- Boivin, G., and J. Brodeur. 2007.** Intra- and Interspecific Interactions among Parasitoids: Mechanisms, Outcomes and Biological Control. *Trophic Guild Biol. Interact. Control.* 123–144.
- Bourchier, R. S., and S. M. Smith. 1996.** Influence of environmental conditions and parasitoid quality on field performance of *Trichogramma minutum*. *Entomol. Exp. Appl.* 80: 461–468.
- Bowen, W. R., and V. M. Stern. 1966.** Effect of temperature on the production of males and sexual mosaics in a uniparental race of *Trichogramma semifumatum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 59: 823–834.
- Bueno, R. C. O. de F., A. D. F. Bueno, J. R. P. Parra, S. S. Vieira, and L. J. De Oliveira. 2010.** Biological characteristics and parasitism capacity of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera , Trichogrammatidae) on eggs of. *Rev. Bras. Entomol.* 54: 322–327.
- Bueno, R. C. O. de F., A. de F. Bueno, F. Moscardi, J. R. P. Parra, and C. B. Hoffmann-Campo. 2011.** Lepidopteran larva consumption of soybean foliage: Basis for developing multiple-species economic thresholds for pest management decisions. *Pest Manag. Sci.* 67: 170–174.
- Bueno, R. C. O. de F., T. R. Carneiro, A. de Freitas Bueno, D. Pratissoli, O. A. Fernandes, and S. S. Vieira. 2010.** Parasitism capacity of *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) on *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) eggs. *Brazilian Arch. Biol. Technol.* 53: 133–139.

- Bueno, R. C. O. de F., T. R. Carneiro, D. Pratisoli, A. de F. Bueno, and O. A. Fernandes. 2008.** Biology and thermal requirements of *Telenomus remus* reared on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* eggs. *Ciência Rural*. 38: 1–6.
- Carneiro, T. R., and O. A. Fernandes. 2012.** Interspecific interaction between *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) and *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs. *An. Acad. Bras. Cienc.* 84: 1127–1135.
- Carvalho, R. A., C. Omoto, L. M. Field, M. S. Williamson, and C. Bass. 2013.** Investigating the Molecular Mechanisms of Organophosphate and Pyrethroid Resistance in the Fall Armyworm *Spodoptera frugiperda*. *PLoS One*. 8.
- Cave, R. D. 2000.** Biology, ecology and use in pest management of *Telenomus remus*. *Biocontrol News Inf.* 21: 21–26.
- Cerutti, F., and F. Bigler. 1995.** Quality assessment of *Trichogramma brassicae* in the laboratory. *Entomol. Exp. Appl.* 75: 19–26.
- Coelho, A., J. M. Milanez, R. de Andrade Moral, C. G. B. Demétrio, and J. R. P. Parra. 2018.** Selection of an Artificial Diet for Laboratory Rearing of *Opogona sacchari* (Lepidoptera: Tineidae) (Bojer, 1856). *Neotrop. Entomol.* 47: 199–204.
- Coelho Jr., A., P. F. Rugman-Jones, C. Reigada, R. Stouthamer, and J. R. P. Parra. 2016.** Laboratory performance predicts the success of field releases in inbred lines of the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* (hymenoptera: Trichogrammatidae). *PLoS One*. 11: 1–16.
- Colazza, S., and M. C. Rosi. 2013.** Differences in the searching behaviour of two strains of the egg parasitoid *Telenomus busseolae* (Hymenoptera: Scelionidae). *Eur. J. Entomol.* 98: 47–52.
- Colazza, S., G. Salerno, and E. Wajnberg. 1999.** Volatile and contact chemicals released by *Nezara viridula* (Heteroptera: Pentatomidae) have a Kairomonal effect on the egg parasitoid *Trissolcus basalís* (Hymenoptera: Scelionidae). *Biol. Control*. 16: 310–317.
- Colmenarez, Y. C., D. Babendreier, F. R. Ferrer Wurst, C. L. Vásquez-Freytez, and A. de Freitas Bueno. 2022.** The use of *Telenomus remus* (Nixon, 1937) (Hymenoptera: Scelionidae) in the management of *Spodoptera* spp.: potential, challenges and major benefits. *CABI Agric. Biosci.* 3: 1–13.
- Cruz, I. 1995.** a Lagarta-Do-Cartucho Na Cultura Do Milho. Embrapa Sete Lagoas - MG. 21.
- Cruz, I., M. L. C. Figueiredo, A. C. Oliveira, and C. A. Vasconcelos. 1999.** Damage of *Spodoptera frugiperda* (Smith) in different maize genotypes cultivated in soil under three levels of aluminium saturation. *Int. J. Pest Manag.* 45: 293–296.
- Cruz, I., and F. T. Turpin. 1982.** Efeito da *Spodoptera frugiperda* em diferentes estádios de crescimento da cultura de milho. *Pesqui. Agropecuária Bras.* 17: 355–359.
- Dequech, S. T. B., C. Camera, V. Soares Sturza, L. do P. Ribeiro, R. B. Querino, and S. Ponce. 2013.** Flutuação populacional de ovos de *Spodoptera frugiperda* e parasitismo natural por *Trichogramma* em milho. *Acta Sci. - Agron.* 35: 295–300.
- Dew, J. A. 1913.** Fall army worm. *J. Econ. Entomol.* 6: 361–366.
- Diez-rodíguez, G. I., and C. Omoto. 2001.** Inheritance of lambda-cyhalothrin resistance in *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera: Noctuidae). *Neotrop. Entomol.* 30: 311–316.
- Domínguez, E. R. 1996.** Control biológico de plagas agrícolas en México. *El Control Biológico en América Lat.* IOBC. Buenos Aires, Argentina. pp. 55–62.
- Dong, H., K. hui Zhu, Q. Zhao, X. ping Bai, J. cheng Zhou, and L. sheng Zhang. 2021.** Morphological defense of the egg mass of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) affects parasitic capacity and alters behaviors of egg parasitoid wasps. *J. Asia. Pac. Entomol.* 24: 671–678.
- Dutton, A., and F. Bigler. 1995.** Flight activity assessment of the egg parasitoid *Trichogramma brassicae* (Hym.: Trichogrammatidae) in laboratory and field conditions. *Entomophaga*. 40: 223–233.

- EPPO. 2020.** *Spodoptera frugiperda* detected in Northern Territory, Australia. (<https://gd.eppo.int/reporting/article-6749>).
- Ferrer, F. 2001.** Biological control of agricultural insect pests in Venezuela; advances, achievements, and future perspectives. *BiocontrolNews Inf.* 22: 67–74.
- Figueiredo, M. L. C., T. M. C. D. Lucia, and I. Cruz. 2002.** Effect of *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) Density on Control of *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) Egg Masses upon Release in a Maize Field. *Rev. Bras. Milho e Sorgo.* 1: 12–19.
- Filippov, N. A. 1989.** The present state and future outlook of biological control in the USSR. *Acta Entomol. Fenn.* 33: 11–18.
- Flanders, S. E. 1927.** Biological control of the codling moth (*Carpocapsa pomonella*). *J. Econ. Entomol.* 20: 644.
- Flanders, S. E. 1939.** Environmental control of sex in hymenopterous insects. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 32: 11–26.
- Fournier, F., and G. Boivin. 2000.** Comparative dispersal of *Trichogramma evanescens* and *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in relation to environmental conditions. *Environ. Entomol.* 29: 55–63.
- Ganiger, P. C., H. M. Yeshwanth, K. Muralimohan, N. Vinay, A. R. V. Kumar, and K. Chandrashekar. 2018.** Occurrence of the new invasive pest, fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), in the maize fields of Karnataka, India. *Curr. Sci.* 115: 621–623.
- García-Roa, F., María T Mosquera-e, Carlos A Vargas-s, and L. Rojas-a. 2002.** Control biológico, microbiológico y físico de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), plaga del maíz y otros cultivos en Colombia. *Rev. Colomb. Entomol.* 28: 53–60.
- Garcia, A. G., W. A. C. Godoy, J. M. G. Thomas, R. N. Nagoshi, and R. L. Meagher. 2018.** Delimiting strategic zones for the development of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) on corn in the State of Florida. *J. Econ. Entomol.* 111: 120–126.
- Gautam, R. D. 1986.** Effect of different temperatures and relative humidities on the efficiency of parasitoid, *Telenomus remus* Nixon (Scelionidae: Hymenoptera) in the laboratory. *J. Entomol. Res.*
- Gerling, D., and A. Schwartz. 1974.** Host selection by *Telenomus remus*, a parasite of *Spodoptera littoralis* eggs. *Entomol. Exp. Appl.* 17: 439–444.
- Goergen, G., P. L. Kumar, S. B. Sankung, A. Togola, and M. Tamò. 2016.** First report of outbreaks of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J E Smith) (Lepidoptera, Noctuidae), a new alien invasive pest in West and Central Africa. *PLoS One.* 11: 1–9.
- Greene, G. L., N. C. Leppla, and W. A. Dickerson. 1976.** Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. *J. Econ. Entomol.* 69: 487–488.
- Gupta, M., and A. D. Pawar. 1985.** Multiplication of *Telenomus remus* Nixon on *Spodoptera litura* (Fabricius) reared on artificial diet. *J. Adv. Zool.* 6: 13–17.
- Gurr, G., N. D. Barlow, J. Memmot, S. D. Wratten, and D. J. Greathead. 2002.** Biological Control: Measures of Success.
- Harvey, J. A., E. H. Poelman, and T. Tanaka. 2013.** Intrinsic inter- and intraspecific competition in parasitoid wasps. *Annu. Rev. Entomol.* 58: 333–351.
- Hassan, S. A. 1989.** Selection of suitable *Trichogramma* strains to control the codling moth *Cydia pomonella* and the two summer fruit tortrix moths *Adoxophyes orana*, *Pandemis heparana* [Lep.: Tortricidae]. *Entomophaga.* 34: 19–27.
- Hassan, S. A. 1997.** Criação da traça do milho, *Sitotroga cerealella*, para a produção massal de *Trichogramma*. *Trichogramma eo Control. biológico Apl.* 173–182.
- Hassell, M. P., and J. K. Waage. 1984.** Host- parasitoid population interactions. *Annu. Rev. Entomol. Vol.* 29: 89–114.

- Hernández, D., F. Ferrer, and B. Linares. 1989.** Introducción de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) para controlar *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en Yaritagua, Venezuela. *Agron. Trop.* 39: 45–61.
- Jiang, Y. Y., J. Liu, and X. M. Zhu. 2019.** Occurrence and trend of *Spodoptera frugiperda* invasion in China. *Plant Prot.* 39: 33–35.
- Johnson, S. J. 1987.** Migration and the life history strategy of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* in the western hemisphere. *Int. J. Trop. Insect Sci.* 8: 543–549.
- Kalleshwaraswamy, C. M., R. Asokan, H. M. M. SWAMY, M. S. Maruthi, H. B. Pavithra, K. Hegde, S. Navi, S. T. Prabhu, and G. Goergen. 2018.** First report of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera: Noctuidae), an alien invasive pest on maize in India. *Pest Manag. Hortic. Ecosyst.* 24: 23–29.
- Kfir, R. 1983.** Functional response to host density by the egg parasite *Trichogramma pretiosum*. *Entomophaga.* 28: 345–353.
- Kim, J., Y. Zhang, J. Day, and H. Zhou. 2018.** MGLM: an R package for multivariate categorical data analysis. *R J.* 10: 73.
- Kumar, D. A., A. D. Pawar, and B. J. Divakar. 1986.** Mass Multiplication of *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera, Scelionidae) on *Corcyra cephalonica* Stainton (Lepidoptera, Galleridae). *J. Adv. Zool.* 7: 21–23.
- van Lenteren, J. C. 2003.** Need for quality control of mass-produced biological control agents, pp. 1–18. *In* Qual. Control Prod. Biol. Control Agents. CABI Publishing.
- Leuck, D. B., and W. D. Perkins. 1972.** A Method of Estimating Fall Armyworm Progeny Reduction When Evaluating Control Achieved by Host-Plant Resistance. *J. Econ. Entomol.* 65: 482–483.
- Li, C. C. 1955.** Population genetics. *Popul. Genet.*
- Li, L.-Y. 1994.** Worldwide use of *Trichogramma* for biological control on different crops: a survey. *Biol. Control with egg parasitoids.*
- Luginbill, P. 1928.** The fall army worm. US Dept. of Agriculture.
- Meirelles, A. P., T. R. Carneiro, and O. A. Fernandes. 2009.** Efeito de diferentes fontes de carboidrato e da privação de alimento sobre aspectos biológicos de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera, Scelionidae). *Rev. Bras. Entomol.* 53: 457–460.
- Menezes-Netto, A. C., A. C. Varella, and O. A. Fernandes. 2012.** Maize-dwelling insects omnivory in *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) egg masses. *Brazilian Arch. Biol. Technol.* 55: 97–100.
- Molina-Ochoa, J., J. E. Carpenter, E. A. Heinrichs, and J. E. Foster. 2006.** Parasitoids and Parasites of *Spodoptera Frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas and Caribbean Basin: an Inventory. *Florida Entomol.* 86: 254–289.
- Montezano, D. G., A. Specht, D. R. Sosa-Gómez, V. F. Roque-Specht, J. C. Sousa-Silva, S. V. Paula-Moraes, J. A. Peterson, and T. E. Hunt. 2018.** Host Plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas. *African Entomol.* 26: 286–300.
- Moral, R. A., J. Hinde, and C. G. B. Demétrio. 2016.** hnp: Half-Normal Plots with Simulation Envelopes.
- Nagoshi, R. N. 2009.** Can the amount of corn acreage predict fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) infestation levels in nearby cotton? *J. Econ. Entomol.* 102: 210-8.
- Nalim, D. M. 1991.** Biologia, nutrição quantitativa e controle de qualidade de populações de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797)(Lepidoptera: Noctuidae) em duas dietas artificiais. 1991. 150p.
- Naranjo-Guevara, N., L. A. O. dos Santos, N. C. Chiarina Pena Barbosa, A. C. M. C. e Castro, and O. A. Fernandes. 2020.** Long-term mass rearing impacts performance of the egg parasitoid *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygastridae). *J. Entomol. Sci.* 55: 69–86.

- Nordlund, D. A., M. R. Strand, W. J. Lewis, and S. B. Vinson. 1987.** Role of kairomones from host accessory gland secretion in host recognition by *Telenomus remus* and *Trichogramma pretiosum*, with partial characterization. *Entomol. Exp. Appl.* 44: 37–43.
- Norris, R. F., C. Chen, and M. Kogan. 2003.** Concepts in integrated pest management.
- Nunney, L. 2003.** Managing captive populations for release: a population-genetic perspective. *Qual. Control Prod. Biol. Control agents theory Test. Proced.* 73–87.
- Parra, J. R. P. 2001.** Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico. ESALQ/FEALQ.
- Parra, J. R. P. 2002.** Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores. Editora Manole Ltda.
- Parra, J. R. P., and S. M. de Carvalho. 1984.** Biologia e nutrição quantitativa de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797) em meios artificiais compostos de diferentes variedades de feijão. *An. da Soc. Entomológica do Bras.* 13: 306–319.
- Parra, J. R. P., and A. Coelho Jr. 2019.** Applied Biological Control in Brazil: From Laboratory Assays to Field Application. *J. Insect Sci.* 19.
- Parra, J. R. P., F. L. Cônsoli, and S. A. Hassan. 1997.** Effects of the factitious hosts *Ephestia kuehniella* and *Sitotroga cerealella*, on the quality of *Trichogramma pretiosum*. *Ann. ANPP.*
- Parra, J. R. P., R. A. Zucchi, A. Coelho Jr, L. D. Geremias, and F. L. Cônsoli. 2015.** *Trichogramma* as a tool for IPM in Brazil. *Augment. Biol. Control Using Trichogramma spp. Curr. Status Perspect.* Northwest A&F Univ. Press. Shaanxi, China. 472–496.
- Pinto, J. D. 1994.** Systematics of the *Trichogrammatidae* with emphasis on *Trichogramma*. *Biol. Control with egg parasitoids.*
- Pinto, J. D. 2006.** A Review of the New World Genera of. *Int. Soc. Hymenopterists.* 15: 38–163.
- Pratisoli, D., and J. R. P. Parra. 2001.** Seleção de linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle das traças *Tuta absoluta* (Meyrick) e *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Neotrop. Entomol.* 30: 277–282.
- Prezotti, L., J. R. R. Parra, R. Vencovsky, C. T. D. S. Dias, I. Cruz, and M. C. M. Chagas. 2002.** Teste de vôo como critério de avaliação da qualidade de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae): Adaptação de metodologia. *Neotrop. Entomol.* 31: 411–417.
- Queiroz, A. P. de, A. de F. Bueno, A. Pomari-Fernandes, O. C. Bortolotto, A. Y. Mikami, and L. Olive. 2017.** Influence of host preference, mating, and release density on the parasitism of *Telenomus remus* (Nixon) (Hymenoptera, Platygastridae). *Rev. Bras. Entomol.* 61: 86–90.
- Roush, R. T., and K. R. Hopper. 1995.** Use of Single Family Lines to Preserve Genetic Variation in Laboratory Colonies. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 88: 713–717.
- Sá, L. A. N. de, and J. R. P. Parra. 1993.** Efeito do número e intervalo entre liberações de *Trichogramma pretiosum* Riley no parasitismo e controle de *Helicoverpa zea* (boddie), em milho. *Sci. Agric.* 50: 355–359.
- Schwartz, A., and D. Gerling. 1974.** Adult biology of *telenomus remus* [hymenoptera: scelionidae] under laboratory conditions. 19.
- Sparks, A. N. 1979.** A Review of the Biology of the Fall Armyworm Author (s): Alton N . Sparks Published by : Florida Entomological Society The Florida Entomologist 62 (2). Florida Entomol. 62: 82–87.
- Stein, C. P., and J. R. P. Parra. 1987.** Uso da radiação ultravioleta para inviabilizar ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) visando estudos com *Trichogramma* spp. *An. da Soc. Entomológica do Bras.* 16: 229–233.

- Storer, N. P., J. M. Babcock, M. Schlenz, T. Meade, G. D. Thompson, J. W. Bing, and R. M. Huckaba. 2010a.** Discovery and characterization of field resistance to Bt maize: *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Puerto Rico. *J. Econ. Entomol.* 103: 1031–1038.
- Storer, N. P., J. M. Babcock, M. Schlenz, T. Meade, G. D. Thompson, J. W. Bing, and R. M. Huckaba. 2010b.** Discovery and Characterization of Field Resistance to Bt Maize: *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Puerto Rico. *J. Econ. Entomol.* 103: 1031–1038.
- Suzuki, Y., H. Tsuji, and M. Sasakawa. 1984.** Sex allocation and effects of superparasitism on secondary sex ratios in the gregarious parasitoid, *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Anim. Behav.* 32: 478–484.
- Team, R. C. 2014.** R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2013.
- Thomson, M. S., and J. N. All. 1983.** Distribution of fall armyworm egg masses of sweet corn [*Spodoptera frugiperda*]. *J. Geogr. Entomol. Soc.*
- Varella, A. C., A. C. Menezes-Netto, J. D. De Souza Alonso, D. F. Caixeta, R. K. D. Peterson, and O. A. Fernandes. 2015.** Mortality dynamics of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) immatures in maize. *PLoS One.* 10: 1–12.
- Vélez, A. M., T. A. Spencer, A. P. Alves, D. Moellenbeck, R. L. Meagher, H. Chirakkal, and B. D. Siegfried. 2013.** Inheritance of Cry1F resistance, cross-resistance and frequency of resistant alleles in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Bull. Entomol. Res.* 103: 700–713.
- Vickery, R. A. 1929.** Studies on the Fall Army Worm in the Gulf Coast District of Texas. *Tech. Bull. United States Dep. Agric.* 1–63.
- Vinson, S. B. 1998.** The general host selection behavior of parasitoid Hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. *Biol. Control.* 11: 79–96.
- Visser, M. E., T. H. Jones, and G. Driessen. 1999.** Interference among insect parasitoids: A multi-patch experiment. *J. Anim. Ecol.* 68: 108–120.
- van Welzen, C. R. L., and J. K. Waage. 1987.** Adaptive responses to local mate competition by the parasitoid, *Telenomus remus*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 21: 359–365.
- Wengrat, A. P. G. S., A. Coelho Junior, J. R. P. Parra, T. A. Takahashi, L. A. Foerster, A. S. Corrêa, A. Polaszek, N. F. Johnson, V. A. Costa, and R. A. Zucchi. 2021.** Integrative taxonomy and phylogeography of *Telenomus remus* (Scelionidae), with the first record of natural parasitism of *Spodoptera* spp. in Brazil. *Sci. Rep.* 11: 1–9.
- Wojcik, B., W. H. Whitcomb, and D. H. Habeck. 1976.** Host range testing of *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae). *Florida Entomol.* 59: 195–198.
- Yee, T. W. 2010.** The VGAM package for categorical data analysis. *J. Stat. Softw.* 32: 1–34.
- Yu, S. J., S. N. Nguyen, and G. E. Abo-Elghar. 2003.** Biochemical characteristics of insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith). *Pestic. Biochem. Physiol.* 77: 1–11.
- Zhang, Y., and H. Zhou. 2016.** MGLM: Multivariate response generalized linear models. R Packag. version 0.0. 7.