

# **Controle de qualidade de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) em ovos de *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) por diferentes gerações.**

QUEIROZ, A. P.<sup>1</sup>; BUENO, A. F.<sup>2</sup>; FERNANDES, A. P.<sup>3</sup>; BRAZ, E. C.<sup>4</sup>; SILVA, G.V.<sup>5</sup>; SILVA, D. M.<sup>6</sup>; GRANDE, M. L. M.<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Instituto Agronômico do Paraná, <sup>2</sup>Pesquisador Embrapa Soja, <sup>3</sup>Universidade Federal da Fronteira do Sul., <sup>4</sup>Universidade Norte do Paraná, <sup>5</sup>Universidade Estadual de Londrina, <sup>6</sup>Instituto Agronômico do Paraná. Caixa Postal, 231, 86001-970, Londrina-PR, anna.paullaqueiroz@hotmail.com.

## **Introdução**

A produção de inimigos naturais em hospedeiros alternativos com capacidade de controlar a praga-alvo semelhante aos agentes de controle biológico encontrados na natureza é uma das principais metas em laboratórios de criação, que atendem diferentes programas de controle biológico aplicado. Portanto, o controle de qualidade é um dos fatores determinantes para o sucesso desses laboratórios de criação, sendo a qualidade total do inimigo natural definida como sua

capacidade de controlar a praga após a liberação em campo (Clarke & McKenzie, 1992). Entretanto, muitas vezes, essa avaliação da capacidade do inimigo natural requer muito tempo e trabalho, o que pode inviabilizar sua realização. Por isso, testes rápidos, geralmente laboratório, que possam representar de forma satisfatória a qualidade do inseto produzido, são sempre desejáveis, pois viabiliza o controle de qualidade em criações massais de inimigos naturais (Van Lenteren, 1992). A Organização Internacional de Controle Biológico (IOBC) - Global Working Group: "Quality Control of Mass Reared Arthropods" - recomenda no controle de qualidade de parasitoides de ovos produzidos em laboratório, a avaliação das variáveis: longevidade, parasitismo e atividade de voo, como sendo suficientes para manter o padrão de qualidade necessário na criação massal desses insetos (van Lenteren, 2003).

*Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) é um parasitoide exclusivo de ovos de lepidópteros, utilizado na Ásia e nas Américas para controle de pragas na cultura do milho. Esse parasitoide apresenta elevada taxa reprodutiva, o que o torna um ótimo agente de controle biológico de insetos-pragas, particularmente os do gênero *Spodoptera* (Cave, 2000). Seu desenvolvimento em ovos de *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) foi relatado por Kumar et al. (1986) e mais recentemente comprovado por Pomari et al. (2013). Esse hospedeiro alternativo pode ser facilmente criado em laboratório em larga escala com menor custo, em relação à criação do hospedeiro natural, *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae). Portanto, o controle de qualidade é uma ferramenta fundamental na produção massal desse inimigo natural em laboratório. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de parasitismo, morfometria e a atividade de voo de *T. remus*, provenientes de ovos de *C. cephalonica*, por três diferentes gerações (F<sub>35</sub>, F<sub>40</sub> e F<sub>45</sub>), a fim de determinar a qualidade dos parasitoides produzidos neste hospedeiro alternativo.

## Material e métodos

Três experimentos independentes foram conduzidos no laboratório de entomologia/parasitoides de ovos da Embrapa Soja, Londrina – PR em condições controladas (T:  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ; UR:  $80 \pm 10\%$ ; Fotoperíodo: 14/10 h C/E).

**Primeiro bioensaio:** Avaliou-se a capacidade de parasitismo de *T. remus* em ovos de *S. frugiperda*, após ser criado em ovos de *C. cephalonica* por sucessivas gerações. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos (parasitoide criado em *C. cephalonica* por 35, 40 e 45 gerações) e 6 repetições ( $n = 5$ ) com 5 fêmeas de *T. remus* individualizadas/repetição. Fêmeas de *T. remus* recém emergidas (até 24h) foram individualizadas em tubos do Tipo Duran previamente alimentadas. Aproximadamente 100 ovos de *S. frugiperda* foram colados diaramente em cartelas de papel e ofertadas as fêmeas de *T. remus* de acordo com os respectivos tratamentos, sendo o parasitismo permitido por 24 horas. Os parâmetros biológicos avaliados foram: porcentagem de emergência (viabilidade), longevidade das fêmeas parentais (dias), período ovo-adulto (dias), número de ovos parasitados e parasitismo diário e acumulado. Para determinar o período ovo-adulto foram realizadas observações diárias da emergência.

**Segundo Bioensaio:** Foi realizada a avaliação morfométrica de *T. remus* em ovos de *C. cephalonica* por sucessivas gerações. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos (diferentes gerações  $F_{35}$ ,  $F_{40}$  e  $F_{45}$ ) e 20 repetições, compostas por um indivíduo adulto mensurado individualmente/repetição. Foram analisados 10 indivíduos fêmeas e 10 indivíduos machos de *T. remus* de acordo com cada tratamento. Para cada exemplar foram realizadas as avaliações morfométricas do comprimento e largura da asa anterior direita, comprimento da tíbia posterior direita e comprimento do corpo (cabeça até o final do abdômen). Para a aferição dos caracteres morfométricos, primeiramente cada exemplar foi fotografado em um microscópio estereoscópico (Leica Application

Suite – Version 1.6.0). Após este procedimento, os caracteres dos exemplares foram medidos utilizando-se o programa Image J – Version 1.47.

**Terceiro Bioensaio:** Foi avaliada a capacidade de voo de *T. remus* provenientes de ovos do hospedeiro alternativo, *C. cephalonica*, por diferentes gerações através do teste de voo. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com 4 tratamentos: *T. remus* proveniente de *S. frugiperda* (controle) e parasitoides de 3 diferentes gerações provenientes de *C. cephalonica* (F<sub>35</sub>, F<sub>40</sub> e F<sub>45</sub>) e 10 repetições. Para a realização teste de voo foi utilizado o modelo adaptado pela ESALQ- USP (Prezotti et al., 2002). Cada repetição recebeu, em média, 300 ovos parasitados, prestes a emergência do parasitoide, sendo as unidades-testes colocadas sobre uma bancada de ferro, diretamente abaixo de fonte de luz, mantidas por três dias. Posteriormente a esse período, foi avaliada a porcentagem de insetos “voadores”, “caminhadores” e “deformados” capturados na gaiola padrão do teste (Prezotti et al., 2002).

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

## Resultados e discussão

O número de ovos parasitados por *T. remus* em ovos de *C.cephalonica* nas três gerações avaliadas não diferiu, sendo obtidos índices de parasitismo semelhante para todas as gerações estudadas (F<sub>35</sub>, F<sub>40</sub> e F<sub>45</sub>). No entanto, para o período ovo-adulto houve diferença entre as gerações F<sub>40</sub> e F<sub>45</sub> (15 e 13 dias) respectivamente. Quanto à viabilidade dos ovos parasitados, a longevidade das fêmeas parentais e a razão sexual não diferiu entre as gerações avaliadas (Tabela 1). Valores semelhantes foram encontrados para *T. remus* em ovos de *S.*

*frugiperda*, hospedeiro natural, e de outras espécies do mesmo gênero (Bueno et al., 2008; Pomari et al., 2012). Com relação a redução do período de desenvolvimento do parasitoide (ovo-adulto) na geração F<sub>45</sub>, isto pode indicar uma possível adaptação de *T. remus* aos ovos de *C. cephalonica*. Por se tratar de um hospedeiro nutricionalmente inferior ao hospedeiro natural, o parasitoide necessitaria, assim, de um maior período para completar o desenvolvimento (Grenier, 1994).

Para as três gerações avaliadas (F<sub>35</sub>, F<sub>40</sub> e F<sub>45</sub>) a maior taxa de parasitismo ocorreu nas primeiras 24 horas e o número médio de ovos parasitados foi de aproximadamente 40, 75 e 75, respectivamente (Figura 2). O parasitismo diário decresceu ao longo da vida das fêmeas de *T. remus*, em todas as gerações, mostrando que o parasitismo tende a diminuir ao longo do tempo. Em relação ao parasitismo acumulado, as fêmeas de *T. remus*, parasitando ovos de *C. cephalonica* proveniente da geração F<sub>40</sub> atingiu 80% de seu parasitismo no 2<sup>a</sup> dia, enquanto na geração F<sub>40</sub> e F<sub>45</sub> atingiram já a partir do primeiro dia de parasitismo (Figura 2). Assim, foi possível verificar que as primeiras 24 horas correspondem ao período de maior parasitismo de fêmeas de *T. remus*, e esses dados corroboram os encontrados por Pomari et al. (2012). Porém, as fêmeas deste parasitoide têm tendência a diminuir o número de ovos colocados diariamente (parasitismo diário), podendo desta forma afirmar-se que o parasitismo tende a decrescer com o passar do tempo.

No teste morfométrico, foi observada diferença apenas no comprimento da asa para as três gerações avaliadas, sendo que, os parasitoides provenientes da geração F<sub>40</sub> e F<sub>45</sub> apresentaram o comprimento da asa maior que a geração F<sub>35</sub> com médias de 0,51; 0,48 e 0,47 mm, respectivamente (Tabela 1). Quando comparada as diferenças morfométricas entre machos e fêmeas de *T. remus*, fêmeas, em geral, apresentaram medidas superiores as dos machos para o comprimento do corpo, com médias de 0,53 e 0,49 mm, respectivamente. Os outros parâmetros morfológicos não apresentaram diferenças entre os sexos (Tabela 2). As dimensões do parasitoide estão diretamente ligadas ao

tamanho do hospedeiro de criação (Gautum, 1986). Desta forma, a redução do tamanho das asas de *T. remus* pode ser explicada pelas diferentes dimensões dos ovos de *C. cephalonica* em relação ao do hospedeiro natural.

A porcentagem média de *T. remus* “voadores” provenientes de ovos de *S. frugiperda* e *C. cephalonica*, em três gerações diferiu para hospedeiro natural, *S. frugiperda*, e apenas para *C. cephalonica* proveniente da geração F<sub>45</sub>, sendo obtida uma média de 90%. Quanto aos “caminhadores”, a maior porcentagem foi para os indivíduos que desenvolveram nos ovos de *C. cephalonica* nas gerações F<sub>40</sub> e F<sub>35</sub> com valores de 19,35 e 13,54% respectivamente. A porcentagem de “deformados”, em relação aos “caminhadores”, diferiu entre os hospedeiros, sendo que, *T. remus* provenientes de *C. cephalonica* nas três gerações avaliadas apresentaram maior porcentagem de indivíduos com deformações nas asas.

Sendo assim, a utilização do hospedeiro alternativo, *C. cephalonica*, afetou a atividade de voo de *T. remus* nas gerações analisadas, possivelmente pelo fato da redução nas dimensões da asa dos parasitoides neste hospedeiro, entretanto, é importante salientar que a porcentagem média ( $\approx 78\%$ ) de parasitoides “voadores” é ainda considerada alta e semelhante à encontrada por outros autores utilizando a mesma unidade-teste, porém para diferentes linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (Rodrigues et al. 2009; Prezotti et al. 2002)

## Conclusão

Levando-se em consideração a capacidade de parasitismo, tamanho do parasitoide e a atividade de voo de *T. remus* criado em ovos do hospedeiro alternativo, *C. cephalonica*, por várias gerações, a utilização deste hospedeiro alternativo apresenta-se eficaz em condições de laboratório, possibilitando sua utilização em criações massais do parasitoide de ovos *T. remus*.

## Agradecimentos

A equipe do Laboratório de Parasitoides pela grande contribuição na realização dos trabalhos. A Capes pela bolsa de mestrado do primeiro autor.

## Referências

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

**Tabela 1.** Capacidade de parasitismo de *Telenomus remus* criado em ovos do hospedeiro alternativo, *Corcyra cephalonica*, por diferentes gerações, parasitando ovos de *Spodoptera frugiperda*.

Geração	Número de ovos parasitados <sup>1</sup>	Período ovo-adulto (dias) <sup>1</sup>	Viabilidade (%) <sup>1</sup>	Longevidade das fêmeas (dias) <sup>1</sup>	Razão sexual <sup>1</sup>
F <sub>35</sub>	59,6 ± 7,7 <sup>ns</sup>	*	99,13 ± 0,26 <sup>ns</sup>	5,6 ± 0,3 <sup>ns</sup>	0,61 ± 0,04 <sup>ns</sup>
F <sub>40</sub>	91,1 ± 3,3	15,06 a	99,21 ± 0,15	6,1 ± 0,4	0,62 ± 0,04
F <sub>45</sub>	77,6 ± 6,9	13,03 b	98,51 ± 0,40	6,1 ± 0,4	0,56 ± 0,05
CV (%)	14,75	0,28	0,64	12,95	16,39
P	0,0767	<0,0001	0,2005	0,5141	0,6395
F	5,22	6768.89	1,84	0,70	0,46

<sup>1</sup>Médias ± EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si (Teste de Tukey,  $P \leq 0,05$ ), "ns" indica diferença não significativa pelo teste F ao nível de 5% de significância. \*Dados perdidos.

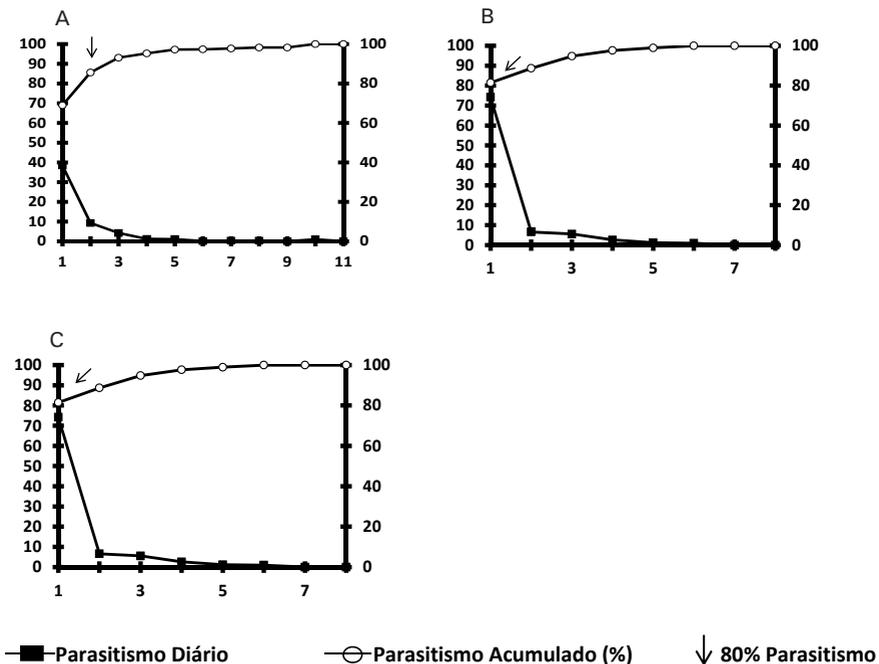


Figura 1. Parasitismo diário e acumulado de *Telenomus remus* em ovos de *Corcyra cephalonica* por diferentes gerações (A) F<sub>35</sub> (B) F<sub>40</sub>(C) F<sub>45</sub>. T: 25 ± 2°C; UR: 70 ± 10% e fotofase de 12 h. As setas indicam 80% de parasitismo.

**Tabela 2.** Tamanho (mm) do parasitoide de ovos *Telenomus remus* quando criado em seu hospedeiro alternativo, *Corcyra cephalonica*, em três gerações distintas.

Geração	Caracteres morfológicos			
	Comprimento da asa <sup>1</sup>	Largura da asa <sup>1</sup>	Comprimento do corpo <sup>1</sup>	Comprimento da tibia <sup>1</sup>
F <sub>35</sub>	0,47 ± 0,01 b	1,14 ± 0,00 <sup>ns</sup>	0,49 ± 0,01 <sup>ns</sup>	0,13 ± 0,00 <sup>ns</sup>
F <sub>40</sub>	0,48 ± 0,01 ab	1,14 ± 0,00	0,52 ± 0,01	0,13 ± 0,00
F <sub>45</sub>	0,51 ± 0,01 a	1,15 ± 0,00	0,52 ± 0,01	0,13 ± 0,00
CV (%)	8,65	10,06	10,79	14,55
P	0,0049	0,3391	0,1086	0,7331
F	5,88	1,10	2,31	0,31

1Médias ± EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente [Teste de Tukey, P ≤ 0,05, F(GL<sub>modelo</sub>; GL<sub>resíduo</sub>)].

**Tabela 3.** Tamanho (mm) de machos/fêmeas do parasitoide de ovos *Telenomus remus* quando criado em seu hospedeiro alternativo, *Corcyra cephalonica*, em três gerações distintas.

Sexo	Caracteres morfológicos			
	Comprimento da asa <sup>1</sup>	Largura da asa <sup>1</sup>	Comprimento do corpo <sup>1</sup>	Comprimento da tibia <sup>1</sup>
Macho	0,48 ± 0,01 <sup>ns</sup>	0,15 ± 0,00 <sup>ns</sup>	0,49 ± 0,01 b	0,13 ± 0,00 <sup>ns</sup>
Fêmea	0,47 ± 0,01	0,14 ± 0,00	0,53 ± 0,01 a	0,13 ± 0,00
CV (%)	8,65	10,06	10,79	14,55
P	0,8518	0,4886	0,0017	0,3113
F	0,04	0,49	10,98	1,04

1Médias ± EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente [Teste de Tukey, P ≤ 0,05, F(GL<sub>modelo</sub>; GL<sub>resíduo</sub>)].

**Tabela 4.** Teste de voo de *Telenomus remus* criados em ovos de *Spodoptera frugiperda* comparado a ovos de *Corcyra cephalonica* por diferentes gerações.

Hospedeiro	Geração	Voadores (%) <sup>1</sup>	Caminhadores (%) <sup>1</sup>	Deformados (%) <sup>1</sup>
<i>S. frugiperda</i>	*	91,61 ± 1,25 a	7,58 ± 1,09 b	0,80 ± 0,26 b
<i>C. cephalonica</i>	F <sub>35</sub>	83,20 ± 2,53 bc	13,54 ± 2,15 ab	3,25 ± 0,45 a
<i>C. cephalonica</i>	F <sub>40</sub>	77,47 ± 1,79 c	19,35 ± 1,80 a	3,18 ± 0,68 a
<i>C. cephalonica</i>	F <sub>45</sub>	89,74 ± 1,74 ab	8,46 ± 1,51 b	1,78 ± 0,37 ab
CV (%)		6,97	23,67	29,16

1Médias ± EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente (Teste de Tukey, P ≤ 0,05). \* *T. remus* criado em ovos de *S. frugiperda* por aproximadamente 250 gerações.