

FRANCISCO ANDRES RODRÍGUEZ DIMATÉ

Palmistichus elaeisis (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) PARA O MANEJO DE
Helicoverpa armigera, *Helicoverpa zea* E *Spodoptera cosmioides* (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE)

Tese apresentada à Universidade Federal de
Viçosa, como parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do
título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2016

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

R696p
2016

Rodríguez Dimaté, Francisco Andrés, 1982-
Palmistichus elaeisis (Hymenoptera: Eulophidae) para o
manejo de *Helicoverpa armigera*, *Helicoverpa zea* e *Spodoptera
cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae) / Francisco Andrés
Rodríguez Dimaté. – Viçosa, MG, 2016.
viii, 60f. : il. ; 29 cm.

Orientador: José Cola Zanúncio.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Pragas agrícolas - Controle biológico. 2. Parasitoides.
3. Milho - Doenças e pragas. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Entomologia. Programa de Pós-graduação em
Entomologia. II. Título.

CDD 22. ed. 632.96

FRANCISCO ANDRES RODRÍGUEZ DIMATÉ

Palmistichus elaeisis (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) PARA O MANEJO DE
Helicoverpa armigera, *Helicoverpa zea* E *Spodoptera cosmioides* (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE)

Tese apresentada à Universidade Federal de
Viçosa, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Entomologia, para obtenção do título de
Doctor Scientiae.

APROVADA: 3 de junho de 2016.



Daniele de Fátima Alves Venâncio



Rosenilson Pinto



Luis Carlos Martinez Castrillón



Fernando Hercos Valicente
(Coorientador)



José Cola Zanuncio
(Orientador)

A Deus, aos meus pais.

A minha querida e amada Mãe Martha pelo amor incondicional,
carinho, incentivo, dedicação, perseverança e exemplo de vida. Te
quero Mama.

A meu Pai,

Meus queridos irmãos, sobrinhos, família e amigos.

DEDICO

.....“Nothing is forever in life
but a memory believe it's true”....

“Tobias Sammet”

“We are the power inside, we have the power,
knowledge is the power”

AGRADECIMENTOS

Deus pelo dom de vida, inspiração, amor e força para superar os obstáculos da vida.

Meus familiares, especialmente a minha Mãe, Pai e irmãos, pelo amor incondicional, incentivo e compreensão.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Entomologia e professores pelas oportunidades e condições oferecidas para a realização e culminação do Doutorado.

Ao professor José Cola Zanuncio, pela amizade, ajuda, estímulo, ensinamentos e oportunidades oferecidas durante a pós-graduação e orientação na elaboração, condução e escrita da tese.

Ao meu co-orientador Professor Jose Eduardo Serrão, pela excelente acolhida, amizade, ensinamentos compartilhados e participação na execução e escrita desta pesquisa.

Ao pesquisador Dr. Fernando Valicente pela amizade, ajuda, estímulo, confiança, ensinamentos e oportunidades oferecidas durante meu tempo na Embrapa, muito obrigado Fernando.

Ao pesquisador José Milton e os colegas do laboratório de Controle Biológico: Ancideriton, Alexandre “caju”, Ana Flavia, Daniele, Douglas “Pai”, Isabel, Júlio, Lorene, Lucas, Rafael Guanabens, Rafael (Pará), Robson “vovô”, Rosenilson, Thiago, Tony, Wagner pelo convívio inesquecível, amizade e ajuda.

Aos amigos em Sete lagoas, colegas e funcionários da Embrapa: Caio, Cassia, Celsinho, Eloiso, Mario, Priscilinha, Osmar “Nat”, Rosane, Victor “capanga” pela ajuda, confiança e amizade.

Aos colegas, estagiários, professores e familiares que, de alguma maneira, colaboraram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	vii
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. OBJETIVOS.....	5
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	6
1ºARTIGO – <i>Palmistichus elaeisis</i> (Hymenoptera: Eulophidae), a biological control agent of lepidopteran pests of corn in Brazil.....	11
RESUMO.....	13
INTRODUÇÃO.....	14
MATERIAL E MÉTODOS.....	15
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
AGRADECIMENTOS	17
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17
2ºARTIGO – <i>Palmistichus elaeisis</i> (Hymenoptera: Eulophidae) reared on pupae of diferente insects hosts.....	22
RESUMO.....	23
INTRODUÇÃO.....	24
MATERIAL E MÉTODOS.....	25
RESULTADOS	27
DISCUSSÃO	28
AGRADECIMENTOS	30
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
3º ARTIGO – Parasitismo e reprodução de <i>Palmistichus elaeisis</i> (Hymenoptera: Eulophidae) em <i>Helicoverpa armigera</i> e <i>Helicoverpa zea</i> (Lepidoptera: Noctuidae)..37	
RESUMO.....	38
INTRODUÇÃO.....	39

MATERIAL E MÉTODOS.....	41
RESULTADOS	43
DISCUSSÃO	45
AGRADECIMENTOS	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
4. CONCLUSÕES GERAIS.....	60

RESUMO

RODRÍGUEZ DIMATÉ, Francisco Andrés, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Junho de 2016. *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) para o manejo de *Helicoverpa armigera*, *Helicoverpa zea* e *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae). Orientador: José Cola Zanuncio. Coorientadores: Rosa Angelica Plata Rueda, José Eduardo Serrão e Fernando Hercos Valicente.

O uso de parasitoides no controle de insetos pragas é bem sucedido, mas técnicas de criação devem ser desenvolvidas com objetivo de maximizar o fitness. O objetivo foi verificar se os insetos praga *Helicoverpa armigera*, *Helicoverpa zea* e *Spodoptera cosmioides* podem ser utilizados na criação do parasitoide *P. elaeisis* visando o controle das mesmas. Dez pupas de *H. armigera*, *H. zea* e *S. cosmioides* de 48 horas de idade, foram expostos individualmente ao parasitismo por 28 fêmeas de *P. elaeisis* com 72 horas de idade, durante 24 horas. As porcentagens de parasitismo, emergência, o ciclo de vida e número de descendentes do parasitoide por pupa destes hospedeiros, demonstram o potencial para controle de *H. armigera*, *H. zea* e *S. cosmioides*, este foi o primeiro registro de parasitismo de *P. elaeisis* nestas pragas do milho. Foi comparado e avaliado o desenvolvimento de *P. elaeisis* em pupas de *H. armigera*, *H. zea* e seu hospedeiro alternativo *Tenebrio molitor*. Pupas de *H. armigera* ($384,71 \pm 9,0$ mg), *H. zea* ($466,19 \pm 17$ mg), e *T. molitor* ($95 \pm 2,93$ mg) com 24 horas de idade, foram pesadas e individualizadas com fêmeas acasaladas de *P. elaeisis* durante 48 horas. As fêmeas de *P. elaeisis* apresentam boa aceitação e adaptação dos hospedeiros *H. armigera* e *H. zea*. A progênie de *P. elaeisis* nos hospedeiros *H. armigera* e *H. zea* comparada com a progênie em *T. molitor*, apresentou um incremento no fitness (tamanho do corpo, razão sexual, e número de progênie). Pupas de *H. armigera* e *H. zea* podem ser alternativas para a criação massal do parasitoide. Os efeitos do hospedeiro e a densidade de parasitismo são importantes nas criações massais para liberações aumentativas dos parasitoides. Foi estabelecida a densidade ótima de parasitismo de *P. elaeisis* nos hospedeiros *H. armigera* e *H. zea*. Pupas de *H. armigera* (350 a 390.00 mg) e de *H. zea* (450 a 500 mg) com 24 horas de idade foram individualizadas com as densidades 1, 4, 8, 12, 16, 20, 24 e 28 fêmeas de *P. elaeisis*. O aumento da densidade de fêmeas de *P. elaeisis* diminui a longevidade, o tamanho da capsula cefálica e o comprimento do corpo dos adultos. Quatro fêmeas de *P. elaeisis* podem ser suficientes para obter parasitismo em pupas de *H. armigera* e *H. zea*. *P. elaeisis* apresentou superparasitismo com o aumento da densidade de suas fêmeas por pupa dos

hospedeiros. A porcentagem de parasitismo, emergência, razão sexual, longevidade, ciclo de vida e tamanho dos adultos demonstram que as densidades de 12 a 20 fêmeas são adequadas para a criação massal desse parasitoide em pupas de *H. armigera* e *H. zea*.

ABSTRACT

RODRÍGUEZ DIMATÉ, Francisco Andrés, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, June, 2016. *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) for management *Helicoverpa armigera*, *Helicoverpa zea* and *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae). Adviser: José Cola Zanuncio. Co-advisers: Rosa Angelica Plata Rueda, José Eduardo Serrão and Fernando Hercos Valicente.

Use of parasitoids in insect pest control is successful but mass rearing techniques must be developed in order to maximize fitness. The objective was to determine whether the pest insect *Helicoverpa armigera*, *Helicoverpa zea* and *Spodoptera cosmioides* can be used in mass rearing of *P. elaeisis* for the control of them. Ten pupae of *H. armigera*, *H. zea* and *S. cosmioides* with 48 hours-old were individually exposed to parasitism by 28 female *P. elaeisis* 72 hours-old for 24 hours. Parasitism and emergence percentages, life cycle and number of offspring per pupa of these hosts demonstrate the potential to control of *H. armigera*, *H. zea* and *S. cosmioides*, this was the first report of parasitism of *P. elaeisis* in these corn pests. Compared and evaluated the biological characteristics of *P. elaeisis* in *H. armigera*, *H. zea* pupae and pupae of its alternate host *T. molitor*. *H. armigera* (384.71 ± 9.0 mg), *H. zea* (466.19 ± 17 mg) and *T. molitor* (95 ± 2.93 mg) pupae with 24 hours-old, were weighed and individualized with *P. elaeisis* mated females for 48 hours. *P. elaeisis* females have good acceptance and adaptation to *H. armigera* and *H. zea* pupae. Offspring of *P. elaeisis* in *H. armigera* and *H. zea* compared to offspring in *T. molitor*, showed an increase in fitness (body size, sex ratio, and number of offspring). *H. armigera* and *H. zea* pupae could be alternatives to mass rearing of the parasitoid. The effects of host and parasitism density are important in mass rearing for augmentative releases of parasitoids. Optimal density of *P. elaeisis* parasitism in the host *H. armigera* and *H. zea* was established. *H. armigera* (350 to 390.00 mg) and *H. zea* (450 to 500 mg) pupae with 24 hours old were individually with the density 1, 4, 8, 12, 16, 20, 24 and 28 females of *P. elaeisis*. The increased density females of *P. elaeisis* reduce longevity, the size of the cephalic capsule and the body length of adults. Four females of *P. elaeisis* may be sufficient to produce parasitism in *H. armigera* and *H. zea* pupae. *P. elaeisis* showed superparasitism with increasing density of female per pupae of these hosts. Parasitism and emergence rates, sex ratio, longevity, life cycle and adult size demonstrate that the densities 12 to 20 females are suitable for mass rearing of this parasitoid in *H. armigera* and *H. zea* pupae.

INTRODUÇÃO GERAL

A cultura do milho é uma das mais importantes do mundo com aproximadamente 184,2 milhões de hectares plantados em 2013 (Faostat 2015), e 55,2 são de milho transgênico. No Brasil o milho transgênico foi à segunda cultura mais importante com 12,5 milhões de hectares (James 2015).

No Brasil a maior parte da produção de milho é destinada a indústria de ração para animais (Mapa 2015), Essa cultura é favorável para o desenvolvimento de insetos pragas como *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) espécie polífaga que se alimenta de plantas cultivadas e espontâneas, incluído o milho (Cabezas et al. 2013; Teodoro et al. 2013), pode ser manejada com plantas expressando toxinas *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt), aplicação de baculovirus, fungos entomopatogênicos e inseticidas (Teodoro et al. 2013).

Helicoverpa zea (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) uma das maiores pragas da agricultura no mundo (Michereff-Filho et al. 2002), e de difícil controle nos Estados Unidos de América, onde coloniza mais de 200 hospedeiros incluindo culturas de importância econômica (Kennedy and Storer 2000). No Brasil é praga secundária do milho e frementemente, pode infestar 100% das espigas (Michereff-Filho et al. 2002). Embora, em alguns locais as perdas de milho no campo ocasionadas pelo dano desta lagarta sejam geralmente toleradas (Storer et al. 2001). Aplicação de inseticidas é o principal controle, mas não é eficiente devido que a lagarta é protegida pela espiga (Fitt 1989). A utilização de híbridos expressando uma ou mais toxinas de (Bt) é um ma das alternativas para o controle de *H. zea* no milho é (Storer et al. 2001, Burkness et al. 2010).

A lagarta polífaga *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) é a praga mais importante da agricultura na Ásia, Europa, África e Austrália, gerando danos

e perdas econômicas estimadas em mais de \$2 bilhões anualmente, excluindo os custos socioeconômicos e ambientais (Tay et al. 2013). Sendo considerada praga quarentenária na América (Czepak et al. 2013, Tay et al. 2013).

No Brasil *H. armigera* foi reportada nos Estados de Goiás, na cultura da soja; em Bahia, em tiguera de soja; e no Mato Grosso, na cultura do algodoeiro, com altas probabilidades de se espalhar pelo Brasil. As práticas recomendáveis de manejo são o uso de armadilhas com feromônio sexual, cultivares resistentes, cultivares expressando as proteínas Bt, liberação de inimigos naturais, utilização de inseticidas seletivos (Czepak et al. 2013), e a utilização do fungo *Nomuraea rileyi* (Hypocreales: Clavicipitaceae) como uma alternativa de controle (Costa et al. 2015).

Os principais métodos de controle para reduzir danos por insetos são o cultural, biológico, mecânico e químico, esse último com riscos à saúde humana e ao ambiente (Nerio et al. 2010; Regnault-roger et al. 2012).

Alternativas mais viáveis para o meio ambiente inclui o controle biológico com três estratégias: controle biológico clássico, biológico aumentativo (inoculativo e inundativo) e biológico por conservação com predadores, parasitoides ou patógenos visando suprimir a densidade populacional de pragas (Eilenberg et al. 2001; Eilenberg and Hokkanen 2006; Hajek 2004; Van driesche et al. 2008).

Parasitoides são utilizados no controle biológico (Heimpel and Lundgren 2000; Henry et al. 2010; Colinet and Boivin 2011), e podem ocorrer em várias ordens de insetos (Coleoptera, Diptera, Lepidoptera, Neuroptera, Strepsiptera, Trichoptera), sendo a maioria principalmente da ordem Hymenoptera (Pennacchio and Strand 2006).

Parasitoides podem ser solitários ou gregários (Godfray 1994) e baseados nas diferentes estratégias de utilização do hospedeiro podem ser divididos em dois grupos idiobiontes e coinobiontes (Pennacchio and Strand 2006; Harvey et al. 201; Malcicka

and Harvey 2014), os idiobiontes paralisam ou matam seus hospedeiros no momento da oviposição, e os coinobiontes parasitam hospedeiros permitindo a alimentação, crescimento e defesa do hospedeiro (Harvey et al. 2013). A maioria dos parasitóides são restritos a um estágio do hospedeiro (ovo, larva, pupa ou adulto) (Pennacchio and Strand 2006).

A ordem Hymenoptera inclui a família Eulophidae com aproximadamente 4.500 espécies descritas em 297 gêneros em áreas temperadas e tropicais, incluindo *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Gauthier et al. 2000; Noyes 2015). Os Eulophidae são parasitóides de imaturos de Coleoptera, Diptera, Hymenoptera, e Lepidoptera, especialmente daqueles em tecidos de plantas, como larvas minadoras (Osmankhil et al. 2010), formadores de galhas e brocas de tronco (Bittencourt and Berti Filho 2004), podendo parasitar ovos, larvas ou pupas como especialistas ou generalistas (Gauthier et al. 2000; Ubaidillah et al. 2003; Talebi et al. 2011). Tetrastichinae, a maior subfamília de Eulophidae, parasita hospedeiros de mais de 100 famílias de insetos de diferentes ordens, além de parasitar ácaros, ovos de aranhas, e nematóides (LaSalle 1993; Castillo et al. 2004).

O *P. elaeisis* (Delvare & LaSalle) (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide gregário idiobionte, relatado em Arctiidae (Delvare and LaSalle 1993), Bombycidae (Pereira et al. 2009), Crambidae, Geometridae (Bittencourt and Berti filho 2004), Lymantriidae (Tavares et al. 2012a), Noctuidae (Bittencourt and Berti filho 2004), Nymphalidae (Gil-Santana and Tavares 2006; Rodriguez et al. 2016), Papilionidae (Tavares et al. 2013), Riodinidae (Delvare and LaSalle 1993), Saturniidae (Tavares et al. 2012b), e Famílias de Coleoptera Tenebrionidae (Zanuncio et al. 2008),

Palmistichus elaeisis foi relatado no Brasil parasitando pragas de eucalipto, maracujazeiro (Gil-Santana and Tavares 2006) e em laboratório, parasitou com sucesso

outros herbívoros pragas e se desenvolveu em hospedeiros alternativos. *P. elaeisis* demonstra potencial de para o controle biológico aplicado de pragas, no entanto, informações sobre aspectos da biologia e desenvolvimento usando diferentes hospedeiros (pragas agrícolas) são limitadas.

OBJETIVO GERAL

Verificar se os insetos praga *Helicoverpa armigera*, *Helicoverpa zea* e *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae) podem ser utilizados na criação do *Palmistichus elaeisis* visando o controle das mesmas.

2.1 Objetivos Específicos

- Verificar o parasitismo de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Helicoverpa armigera*, *Helicoverpa zea* e *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae).
- Comparar e avaliar o desenvolvimento *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Helicoverpa armigera*, *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) e seu hospedeiro alternativo *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae).
- Estabelecer a densidade de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitando pupas de *Helicoverpa armigera* e *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bittencourt, MAL., and E, Berti Filho. 2004. Desenvolvimento dos estágios imaturos de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de Lepidoptera. Rev. Bras. Entomol. 48:65-68.

Burkness, EC., Dively, G., Patton, T., Morey, AC., and WD, Hutchison. 2010. Novel Vip3A *Bacillus thuringiensis* (Bt) maize approaches high-dose efficacy against *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) under field conditions. GM Crops 1:337-343.

Cabezas, MF., Nava, DE., Geissler, LO., Melo, M., Garcia, MS., and R, Krüger. 2013. Development and leaf consumption by *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) reared on leaves of agroenergy crops. Neotrop. Entomol. 42:588-594.

Castillo, A., Infante, F., López, G., Trujillo, J., Kirkendall, LR., and FE, Vega. 2004. Laboratory parasitism by *Phymastichus coffea* (Hymenoptera: Eulophidae), upon non-target bark beetles associated with coffee plantations. Fla. Entomol. 87:274-277.

Colinet, H. and G, Boivin. 2011. Insect parasitoids cold storage: A comprehensive review of factors of variability and consequences. Biol. Control 58:83-95.

Costa, VHD., Soares, MA., Rodriguez, FAD., Zanuncio, JC., Silva, IM., and FH, Valicente. 2015. *Nomuraea rileyi* (Hypocreales: Clavicipitaceae) in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae in Brazil. Fla. Entomol. 98:796-798.

Czepak, C., Albernaz, KC., Vivan, LM., Guimaraes, HO., and T, Carvalhais. 2013. Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. Pesq. Agropec. Trop. 43:110-113.

Delvare, G., and J, Lasalle. 1993. A new genus of Tetrastichinae (Hymenoptera: Eulophidae) from the Neotropical region, with the description of a new species parasitic on key pests of oil palm. *J. Nat. Hist.* 27:435-444.

Eilenberg, J., Hajek, AE., and C, Lomer. 2001. Suggestions for unifying the terminology in biological control. *BioControl* 46:387-400.

Eilenberg, J., and H, Hokkanen. 2006. An ecological and societal approach to biological control. Springer. Press. The Netherlands.

Faostat. 2015. Food and agriculture organization of the United Nations. The statistics division. <http://faostat.fao.org/> (accessed 19 Apr 2015)

Fitt, GP. 1989. The ecology of *Heliothis* species in relation to agroecosystems. *Annu. Rev. Entomol.* 34:17-52.

Gauthier, N., Lasalle, JA., Quicke, DLJ., and HCJ, Godfray. 2000. Phylogeny of Eulophidae (Hymenoptera: Chalcidoidea), with a reclassification of Eulophidae and the recognition that Elasmidae are derived eulophids. *Syst. Entomol.* 25:521-539.

Gil-Santana, HR., and MT, Tavares. 2006. *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera, Eulophidae): a new parasitoid of *Dione juno juno* (Cramer) (Lepidoptera, Nymphalidae). *Rev. Bras. Zool.* 23:891-892.

Godfray, HCJ. 1994. Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.

Hajek, A. 2004. Natural enemies, an introduction to biological control. Cambridge, University Press.

Harvey, JA., Poelman, EH., and T, Tanaka. 2013. Intrinsic inter- and intraspecific competition in parasitoid wasps. *Annu. Rev. Entomol.* 58:333-51.

Heimpel, GE., and JG, Lundgren. 2000. Sex ratios of commercially reared biological control agents. *Biol. Control* 19:77-93.

Henry, LM., May, N., Acheampong, S., Gillespie, DR., and BD, Roitberg. 2010. Host-adapted parasitoids in biological control: Does source matter?. *Ecol. Appl.* 20: 242-250.

James, C. 2015. Global status of commercialized biotech/GM crops: 2014. ISAAA Briefs No. 49. International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications, Ithaca, NY

Kennedy, GG., and NP, Storer. 2000. Life systems of polyphagous arthropod pests in temporally unstable cropping systems. *Ann. Rev. Entomol.* 45:467-93.

LaSalle, JA. 1993. North American genera of Tetrastichinae (Hymenoptera: Eulophidae). *J. Nat. His.* 28:109-236.

Malcicka, M., and JA, Harvey. 2014. Trade-offs between developmental parameters of two endoparasitoids developing in different instars of the same host species. *Biol. Control* 74:52-58.

Mapa, 2015. Ministério da agricultura- Milho- www.agricultura.gov.br.

Michereff Filho, M., Della Lucia, TMC., Cruz, I., Guedes, RNC., and JCC, Galvão. 2002. Chlorpyrifos spraying of no-tillage corn during tasselling and its effect on damage by *Helicoverpa zea* (Lep., Noctuidae) and on its natural enemies. *J. Appl. Entomol.* 126:422-430.

Nerio, L.S., Olivero-verbela, J., and E, Stashenko. 2010. Repellent activity of essential oils. A review. *Bioresource Technol.* 101:372-378.

Noyes, JS. 2015. Universal Chalcidoidea Database. London, Natural History Museum. <http://www.nhm.ac.uk/research-curation/research/projects/chalcidoids/> [accessed on september 2015].

Osmankhil, MH., Mochizuki, A., Hamasaki, K., and K, Iwabuchi. 2010. Oviposition and larval development of *Neochrysocharis formosa* (Hymenoptera: Eulophidae) inside the host larvae, *Liriomyza trifolii*. *JARQ-Jpn. Agr. Res. Q.* 44:33-36.

Pennacchio, F., and MR, Strand. 2006. Evolution of developmental strategies in parasitic Hymenoptera. *Annu. Rev. Entomol.* 51:233-58.

Pereira, FF., Zanoncio, JC., Serrão, JE., Oliveira, HN., Kellen, F., and ELV, Grance. 2009. Progenie de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) parasitando pupas de *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) de diferentes idades. *Neotrop. Entomol.* 38:660-664.

Rodriguez, DFA., Poderoso, JCM., Ribeiro, RC., Brügger, BP., Wilcken, CF., Serrão, JE., and JC, Zanoncio. 2016. *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing pupae of the passion fruit pest *Agraulis vanillae vanillae* (Lepidoptera: Nymphalidae). *Fla. Entomol.* 99:130-132.

Regnault-roger, C., Vincent, C., and JT, Arnason. 2012. Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. *Annu. Rev. Entomol.* 57:405-424.

Storer, NP., Van Duyn, JW., and GG, Kennedy. 2001. Life history traits of *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) on non-Bt and Bt transgenic corn hybrids in eastern North Carolina. *J. Econ. Entomol.* 94:1268-1279.

Talebi, AA., Khoramabadi, AM., and E, Rakhshani. 2011. Checklist of eulophid wasps (Insecta: Hymenoptera: Eulophidae) of Iran. *CheckList -J. S. List Dis.* 7:708-719.

Tavares, WS., Hansson, C., Serrão, JE., and JC, Zanoncio. 2012a. Emergence of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) from pupae of *Thagona tibialis* (Lepidoptera: Lymantriidae) collected in the medicinal plant *Terminalia catappa* (Combretaceae). *Entomol. News.* 122:250-256.

Tavares, WS., Mielke, OHH., Wilcken, CF., Simon, L., Serrão, JE., and JC, Zanoncio. 2012b. *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing pupae of *Citioica anthonilis* (Lepidoptera: Saturniidae) collected on *Piptadenia gonoacantha* (Fabaceae). *J. Lepid. Soc.* 66:216-220.

Tavares, WS., Soares, MA., Mielke, OHH., Poderoso, JCM., Serrão, JE., and JC, Zanuncio. 2013. Emergence of *Palmistichus elaeisis* (Delvare & LaSalle, 1993) (Hymenoptera: Eulophidae) from pupae of *Heraclides anchisiades capys* (Hübner, 1809) (Lepidoptera: Papilionidae) in the laboratory. *Folia Biol.-Krakow* 61:233-237.

Tay, WT., Soria, MF., Walsh, T., Thomazoni, D., Silvie, P., Behere, GT., Anderson, C., and S, Downes. 2013. A brave new world for an old world pest: *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. *PLoS ONE* 8:e80134.1-7.

Teodoro, AV, Procópio, S de Oliveira., Bueno, AF., Negrisoni Junior, A.S., Carvalho, HWL., Negrisoni, CRCB., Brito, LF., and EC, Guzzo. 2013. *Spodoptera cosmioides* (Walker) e *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae): novas pragas de cultivos da Região Nordeste. 7 p.

Ubaidillah, R., LaSalle, J., Quicke, DLH., and J, Kojima. 2003. Cladistic analysis of morphological characters in the eulophine tribe Cirrospilini (Hymenoptera: Eulophidae). *Entomol. Sci.* 6:259-279.

Van Driesche, R., Hoddle, M., and T, Center. 2008. Control of pests and weeds by natural enemies: an introduction to biological control. Blackwell Publishing Ltd.

Zanuncio, JC., Pereira, FF., Jacques, GC., Tavares, MT., and JE, Serrão. 2008. *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae), a new alternative host to rear the pupae parasitoid *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae). *Coleopt. Bull.* 62:64-66.

CAPÍTULO 1

***Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae), a biological control agent of lepidopteran pests of corn in Brazil**

Artigo nas normas da *Florida Entomologist*

***Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae), a biological control agent of
lepidopteran pests of corn in Brazil**

Francisco Andrés Rodríguez Dimaté¹, Victor Hugo Duarte da Costa², Fernando Hercos Valicente³, Francisco de Souza Ramalho⁴, José Eduardo Serrão⁵ and José Cola Zanuncio¹

¹Departamento de Entomologia/BIOAGRO, Universidade Federal de Viçosa, 36570-900 Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

²Departamento de Biotecnologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras, 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil.

³Embrapa Milho e Sorgo, Rod. MG 424 KM 65, 35701-970 Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil.

⁴Unidade de Controle Biológico, Embrapa Algodão, Av. Osvaldo Cruz, 1143, 58428-09512 Campina Grande, Paraíba, Brasil.

⁵Departamento de Biologia, Universidade Federal de Viçosa, 36570-900 Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

*Corresponding author: zanuncio@ufv.br

Abstract

Palmistichus elaeisis (Delvare & LaSalle) (Hymenoptera: Eulophidae) is a gregarious idiobiont endoparasitoid of pupae Coleoptera and Lepidoptera pests of many crops. The objective of this study was to evaluate the reproduction and development of *P. elaeisis* in *Helicoverpa armigera* (Hübner), *Helicoverpa zea* (Boddie) and *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) pupae. Ten pupae each of these species with 48 h-old, were individually and exposed to parasitism by 28 *P. elaeisis* mated

females with 72 h-old, for 24 hours. The percentages of parasitism and the emergence of *P. elaeisis* progeny from *H. armigera*, *H. zea*, and *S. cosmioides* pupae were 100% and 100%; 100% and 90% and 100% and 80%, respectively. The life cycle (egg to adult) of these parasitoid pupae with *H. armigera*, *H. zea*, and *S. cosmioides* was 22.44 ± 0.18 , 24.60 ± 0.15 , and 21.50 ± 0.19 with 135.20 ± 34.55 , 105.40 ± 16.86 and 266.50 ± 47.48 descendant per pupa, respectively. This is the first report of *P. elaeisis* parasitizing *H. armigera*, *H. zea*, and *S. cosmioides* pupae and showing that *P. elaeisis* can be an alternative for mass releasing to manage these lepidopteran pests in maize crops.

Keywords: *Helicoverpa armigera*, *Helicoverpa zea*, Maize, *Palmistichus elaeisis*, *Spodoptera cosmioides*

Resumo

Palmistichus elaeisis (Delvare & LaSalle) (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide idiobionte gregário de pupas de Coleoptera e Lepidoptera de muitas culturas. O objetivo deste estudo foi avaliar a reprodução e desenvolvimento do *P. elaeisis* em pupas de *Helicoverpa armigera* (Hübner), *Helicoverpa zea* (Boddie) e *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae). Dez pupas cada um destes Lepidoptera de 48 horas de idade, foram expostos individualmente ao parasitismo por 28 fêmeas de *P. elaeisis* com 72 horas de idade, durante 24 horas. As porcentagens de parasitismo e emergência da progênie de *P. elaeisis* em pupas de *H. armigera*, *H. zea* e *S. cosmioides* foram de 100% e 100%; 100% e 90% e 100% e 80%, respectivamente. O ciclo de vida (ovo a adulto) deste parasitoide de pupas com *H. armigera*, *H. zea*, e *S. cosmioides* foi 22.44 ± 0.18 , 24.60 ± 0.15 e 21.50 ± 0.19 com 135.20 ± 34.55 , 105.40 ± 16.86 e 266.50 ± 47.48 descendente por pupa, respectivamente. Este é o primeiro relato

de *P. elaeisis* parasitando pupas de *H. armigera*, *H. zea*, e *S. cosmioides* e mostrando que *P. elaeisis* pode ser uma alternativa para liberações massais para o manejo dessas pragas de lepidópteros em culturas de milho.

Introduction

Maize is one of the most important crops in worldwide. Brazil stands fourth in the world production, with Central, North, and South American countries representing a share of 51.4% of the area with this culture in the world (Faostat 2014). The corn crop can favor the development, reproduction, and spread of *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). This insect is a polyphagous pest and the most important one for agriculture in Africa, Asia, Australia and Europe, with annual economic losses higher than \$2 billion and socioeconomic and environmental costs (Tay et al. 2013) besides being a quarantine pest in the Americas (Czepak et al. 2013; Tay et al. 2013).

In Brazil, *H. armigera* has been reported in the states of Goiás in soybean, Bahia in soybean, and Mato Grosso in cotton with high probability of spreading throughout the country. The integrated pest management (IPM) of *H. armigera* includes the use of traps with sexual pheromone, resistant cultivars expressing Bt proteins or not, release of natural enemies and selective insecticides (Czepak et al. 2013).

The corn earworm *Helicoverpa zea* Boddie (Lepidoptera: Noctuidae) is a major agricultural pest in the world (Michereff-Filho et al. 2002) being difficult to control in the United States where it can colonize more than 200 hosts, many of them of economic importance (Kennedy and Storer 2000). In Brazil, *H. zea* is a secondary pest of corn, often infesting up to 100% of its ears (Michereff-Filho et al. 2002). This pest is controlled mainly with insecticides, but the protection inside the corn ears can reduce the efficiency of this method (Fitt 1989).

Spodoptera cosmioides Walker (Lepidoptera: Noctuidae) is a polyphagous species feeding on a large number of wild and cultivated plants, including maize (Cabezas et al. 2013) and causes economic losses, requiring the identification of natural enemies for its biological control.

Palmistichus elaeisis is a generalist endoparasitoid idiobiont (Delvare et LaSalle) (Hymenoptera: Eulophidae) was reported from lepidoptera, such as Arctiidae (Delvare and LaSalle, 1993), Bombycidae (Pereira et al., 2009), Crambidae, Geometridae (Bittencourt and Berti Filho, 2004), Lymantriidae (Tavares et al., 2012), Noctuidae (Bittencourt and Berti filho, 2004), Nymphalidae (Gil-Santana and Tavares, 2006; Rodriguez et al., 2016), Papilionidae (Tavares et al., 2013), Riodinidae (Delvare and LaSalle, 1993) and from Coleoptera as Tenebrionidae (Zanuncio et al., 2008). This demonstrates the potential of *P. elaeisis* for use as biological control agent of lepidopteran pests for different crops. The objective of this study was to evaluate the parasitism on the main lepidopteran pests of corn by *P. elaeisis*.

Materials and methods

Adult of *P. elaeisis*, 72h-old, were maintained in glass tubes (14x2.2 cm) plugged with cotton and with honey droplets inside as food. *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) pupae of 24h-old, were exposed to parasitism for 48 hours at a temperature of 25 ± 2 °C, $70 \pm 10\%$ relativity humidity and 12:12 hours photoperiod (Zanuncio et al. 2008).

Pupae with 24h-old pupae, of *S. cosmioides*, *H. armigera*, and *H. zea* were obtained from the mass rearing of Biological Control Laboratory of Embrapa Milho and Sorgo in Sete Lagoas, Minas Gerais State, Brazil, these insects were individualized with twenty-eight 72h-old *P. elaeisis* females for 48 hours (Pereira et al. 2009). For each tube one pupae and the parasitoids were observed daily until the emergence of offspring. The

life cycle (egg to adult), parasitism rates (the number of pupae parasitized divided by the total number of pupae offered to females, multiplied by 100), and progeny rates (overall percentage of pupal emergence was the number of pupae emerged with parasitoids divided by the total number of pupae offered to females, multiplied by 100) of *P. elaeisis* were evaluated.

Results and discussion

The percentages of parasitism and progeny of *P. elaeisis* emerged from *H. armigera*, *H. zea*, and *S. cosmioides* pupae were 100% and 90%, 100% and 100%, and of 100% and 80%. This demonstrates the suitability of these hosts for the development of parasitoids (Duan et al., 1997). The life cycle (egg to adult) (Table 1) is within the range of 21 to 23 days recorded for *P. elaeisis* in *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae), *Anticarsia gemmatilis* Hubner, *Pseudaletia sequax* Franclemont, *Alabama argillacea* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae), *Dirphia moderata* Bouvier (Lepidoptera: Saturniidae) and *Halysidota pearsoni* Watson (Lepidoptera: Arctiidae) (Pereira et al. 2008).

The number of adults per *H. armigera*, *H. zea*, and *S. cosmioides* (Table 1) confirming the difference of this number with host type (Bittencourt and Berti Filho 2004; Gil-Santana and Tavares 2006; Pereira et al. 2008, 2010; Tavares et al. 2012, 2013). However, size, weight, age, and nutritional quality of the host can affect the number and size of parasitoids emerged (Harvey and Strand 2002; Lopez et al. 2009) and need of evaluating the factors that could influence inundative releases of parasitoids from mass rearing, as host selection, affected by characteristics of the host and plants (Chailleux et al. 2013). This change in the progeny of pupa parasitoids shows the need

of research with different insect host pests and to increase finding parasitoid pupae of different insect pests (Desneux et al. 2010).

Palmistichus elaeisis have the potential for control of *H. armigera*, *H. zea*, and *S. cosmioides*, but the optimal density of parasitism, mass rearing, and release of this parasitoid need to be studied for the integrated pest management (Luo et al. 2014). This can be facilitated by the fact that *P. elaeisis* have been reared in the laboratory with Coleoptera and Lepidoptera pupae of different species (Gil-Santana and Tavares 2006; Pereira et al. 2010; Zanuncio et al. 2008). This is the first report of *P. elaeisis* parasitizing *H. armigera*, *H. zea*, and *S. cosmioides* pupae. *P. elaeisis* can be an alternative for mass releasing to manage these lepidopteran pests in maize crops.

Acknowledgments

To Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) and Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) for financial support. Global Edico Services corrected and proofread the English of this manuscript.

References Cited

Bittencourt MAL, Berti-Filho E. 2004. Desenvolvimento dos estágios imaturos de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera, Eulophidae) em pupas de Lepidoptera. *Revista Brasileira de Entomologia* 48: 65-68.

Cabezas MF, Nava DE, Geissler LO, Melo M, Garcia MS, Krüger R. 2013. Development and leaf consumption by *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) reared on leaves of agroenergy crops. *Neotropical Entomology* 42: 588-594.

Chailleux A, Biondi A, Han P, Tabone E, Desneux N. 2013. Suitability of the pest-plant system *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) tomato for *Trichogramma*

(Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitoids and insights for biological control. *Journal of Economic Entomology* 106: 2310-2321.

Czepak C, Albernaz KC, Vivan LM, Guimaraes HO, Carvalhais T. 2013. Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. *Pesquisa Agropecuaria Tropical* 43: 110-113.

Delvare G, Lasalle J. 1993. A new genus of Tetrastichinae (Hymenoptera: Eulophidae) from the Neotropical region, with the description of a new species parasitic on key pests of oil palm. *Journal of Natural History* 27: 435-444.

Desneux N, Wajinberg E, Wyckhuys KAG, Burgio G, Arpaia S, Nàrvaez-Vasquez CA, González-Cabrera J, Ruescas DC, Tabone E, Frandon J, Pizzol J, Poncet C, Cabello T, Urbaneja A. 2010. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. *Journal of Pest Science* 83: 197-215.

Duan JJ, Ahmad M, Joshi K, Messing RH. 1997. Evaluation of the impact of the fruit fly parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) on a non-target tephritid, *Eutreta xanthochaeta* (Diptera: Tephritidae). *Biological Control* 8: 58-64.

Faostat, 2014. Food and agriculture organization of the United Nations. The statistics division. <http://faostat.fao.org/>.

Fitt, G. P. 1989. The ecology of *Heliothis* species in relation to agroecosystems. *Annual Review of Entomology* 34: 17-52.

Gil-Santana HR, Tavares MT. 2006. *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera, Eulophidae): a new parasitoid of *Dione juno juno* (Cramer) (Lepidoptera: Nymphalidae). *Revista Brasileira de Zoologia* 23: 891-892.

Harvey JA, Strand MR. 2002. The developmental strategies of endoparasitoid wasps vary with host feeding ecology. *Ecology* 83: 2439-2451.

Kennedy GG, Storer NP. 2000. Life systems of polyphagous arthropod pests in temporally unstable cropping systems. *Annual Review of Entomology* 45: 467-93.

López OP, Hénaut Y, Cancino J, Lambin M, Cruz-López L, Rojas JC. 2009. Is host size an indicator of quality in the mass-reared parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera, Braconidae)? *Florida Entomologist* 92: 441-449.

Luo S, Naranjo SE, Wua K. 2014. Biological control of cotton pests in China. *Biological Control* 6: 6-14.

Michereff Filho M, Della Lucia TMC, Cruz I, Guedes RNC, Galvão JCC. 2002. Chlorpyrifos spraying of no-tillage corn during tasselling and its effect on damage by *Helicoverpa zea* (Lep., Noctuidae) and on its natural enemies. *Journal of Applied Entomology* 126: 422-430.

Pereira FF, Zanuncio TV, Zanuncio JC, Pratissoli D, Tavares MT. 2008. Species of Lepidoptera defoliators of eucalypt as new hosts for the polyphagous parasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 51: 259-262.

Pereira FF, Zanuncio JC, Serrão JE, Oliveira HN, Kellen F, Grance ELV. 2009. Progenie de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) parasitando pupas de *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) de diferentes idades. *Neotropical Entomology* 38: 660-664.

Pereira FF, Zanuncio JC, Serrão JE, Zanuncio TV, Pratissoli D, Pastori PL. 2010. The density of females of *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx*

mori L. (Lepidoptera: Bombycidae). Anais da Academia Brasileira de Ciências 82: 323-331.

Rodríguez DFA, Poderoso JCM, Ribeiro RC, Brügger BP, Wilcken CF, Serrão JE, Zanuncio JC. 2016. *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing pupae of the passion fruit pest *Agraulis vanillae vanillae* (Lepidoptera: Nymphalidae). Florida Entomologist 99: 130-132.

Tavares WS, Hansson C, Serrão JE, Zanuncio JC, 2012. Emergence of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) from pupae of *Thagona tibialis* (Lepidoptera: Lymantriidae) collected in the medicinal plant *Terminalia catappa* (Combretaceae). Entomological News 122: 250-256.

Tavares WS, Soares MA, Mielke OHH, Poderoso JCM, Serrão JE, Zanuncio JC. 2013. Emergence of *Palmistichus elaeisis* (Delvare & LaSalle, 1993) (Hymenoptera: Eulophidae) from pupae of *Heraclides anchisiades capys* (Hübner, 1809) (Lepidoptera: Papilionidae) in the laboratory. Folia Biologica (Krakow) 61: 233-237.

Tay WT, Soria MF, Walsh T, Thomazoni D, Silvie P, Behere GT, Anderson C, Downes S. 2013. A brave new world for an old world pest: *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. PLoS ONE 8:e80134.1-7.

Zanuncio JC, Pereira FF, Jacques GC, Tavares MT, Serrão JE. 2008. *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae), a new alternative host to rear the pupae parasitoid *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae). Coleopterists Bulletin 62: 64-66.

Tabela 1. Life cycle and progeny per pupa (Prog.) (mean \pm standard error) of *Palmistichus elaeisis* that emerged from *Helicoverpa armigera*, *Helicoverpa zea*, and *Spodoptera cosmioides* pupae (Lepidoptera: Noctuidae)

Characteristics	<i>H. armigera</i>	<i>H. zea</i>	<i>S. cosmioides</i>
life cycle (days)	22.44 \pm 0.18	24.60 \pm 0.15	21.50 \pm 0.19
Prog.	135.20 \pm 34.55	105.40 \pm 16.86	266.50 \pm 47.48

CAPÍTULO 2

*Palmistichus elaeisis (Hymenoptera: Eulophidae) reared on pupae of different insects
hosts*

Artigo nas normas da *Biological Control*

***Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) reared on pupae of different insects
hosts**

Francisco Andrés Rodríguez Dimaté^{1*}, Fernando Hercos Valicente², Douglas Silva Parreira³ Francisco de Souza Ramalho⁴, José Eduardo Serrão⁵ and José Cola Zanuncio^{1*}

¹Departamento de Entomologia/BIOAGRO, Universidade Federal de Viçosa, 36570-900 Viçosa, Minas Gerais, Brasil. Tel.: + 55 (31) 3899-4014 Fax.: + 55 (31) 3899-4012

²Embrapa Milho e Sorgo, Rod. MG 424 KM 65, 35701-970 Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil.

³Faculdade Pitágoras Campus Ipatinga, 35160-017, Ipatinga, Minas Gerais, Brasil.

⁴Unidade de Controle Biológico, Embrapa Algodão, Av. Osvaldo Cruz, 1143, 58428-09512 Campina Grande, Paraíba, Brasil.

⁴Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa, 36570-900 Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

* Author for correspondence: E-mail: zanuncio@ufv.br

Highlights

- The parasitoid *Palmistichus elaeisis* was reared with three different hosts.
- *Palmistichus elaeisis* fitness depends on host weight and species.
- *Palmistichus elaeisis* can be reared and released for the biological control of *Helicoverpa armigera* and *Helicoverpa zea*.

Abstract

Palmistichus elaeisis (Delvare & LaSalle) idiobiont pupal endoparasitoid (Hymenoptera: Eulophidae) was reared in the laboratory on three different hosts, *Helicoverpa armigera* Hübner, *Helicoverpa zea* Boddie (Lepidoptera: Noctuidae) and alternative host *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae). Emergence and parasitism percentages of *P. elaeisis* offspring reared with *H. armigera*, *H. zea* and *T. molitor* pupae were similar between hosts. However offspring of this parasitoid was

larger with *H. armigera* and *H. zea* pupae. Adults of *P. elaeisis* (females and males) had larger sizes in *H. armigera* and *H. zea* pupae. The life cycle of this parasitoid, from egg to adult, was shorter with *T. molitor* than with *H. armigera* and *H. zea*. The longevity of *P. elaeisis* females and males in different hosts was similar, but sex ratio was higher from *H. armigera* and *H. zea*. The hosts used maintained the physiological capacity and development of parasitoid. *Palmistichus elaeisis* showed good adaptation and acceptance of the hosts *H. armigera*, *H. zea* and *T. molitor*. This parasitoid increased earnings in fitness relative to body size, sex ratio and progeny on heavier hosts, the optimal density of parasitism should be established to prevent superparasitism and competition of the immature stages by the resource (host). The insect pests *H. armigera* and *H. zea* can be alternatives for mass rearing the parasitoid *P. elaeisis*.

Key words: Biological control, fitness, *Helicoverpa armigera*, *Helicoverpa zea*, mass-rearing

1. Introduction

Mass rearing and release of natural enemies, especially parasitoids (Henry et al., 2010; Colinet and Boivin, 2011), is one of the most important tactics of integrated pest management (Luo et al., 2014). The stage, size and host age are important to maximize the fitness of natural enemies, to mass rearing protocols for biological control (Watt and Duan, 2014). Host and parasitoid interactions, ecology, population dynamics and biological characteristics of insect pests, alternative hosts and natural enemies should be studied for the success of biological control programs (Häckermann et al., 2007; Canale and Benelli, 2012).

Difficulties and mass rearing costs of parasitoids represent obstacles for inundative releases of natural enemies at the right time (Colinet and Boivin, 2011). This shows the importance of developing parasitoid mass rearing methods in the laboratory and studying biotic and abiotic factors influencing them (Rousse et al., 2009; Vacari et al., 2012.). Pupae parasitoid of insect pests (Mckay and Broce, 2008; Chen et al., 2010; Lee and Pemberton, 2010) need further studies (Harvey et al., 2015). Generalist parasitoids have been used in biological control with the premise that they can parasitize most hosts used. However, alternating hosts have impacts on reproductive

characteristics of these natural enemies (Henry et al., 2010; Jones et al., 2015). The size, type, quality and age of the host (Harvey, 2005; López et al., 2009; Malcicka and Harvey, 2014), the only source nutritional and physiological environment during development (Liu et al., 2011), affect the biological characteristics of parasitoids (Harvey, 2000; Harvey and Strand, 2002).

Palmistichus elaeisis (Delvare & LaSalle) is a generalist endoparasitoid idiobiont pupae of several families of Lepidoptera as Arctiidae (Delvare and LaSalle, 1993), Bombycidae (Pereira et al., 2009), Crambidae, Geometridae (Bittencourt and Berti Filho, 2004), Lymantriidae (Tavares et al., 2012a), Noctuidae (Bittencourt and Berti Filho, 2004; Rodriguez et al., 2016a), Nymphalidae (Gil-Santana and Tavares, 2006; Rodriguez et al., 2016b), Papilionidae (Tavares et al., 2013), Riodinidae (Delvare and LaSalle, 1993), Saturniidae (Tavares et al., 2012b), and Tenebrionidae (Coleoptera) (Zanuncio et al., 2008).

This parasitoid *P. elaeisis* can be used to control lepidopteran pests of eucalyptus (Zanuncio et al., 2008), maize (Rodriguez et al., 2016a) and passion fruit (Gil-Santana and Tavares, 2006; Rodriguez et al., 2016). Mass rearing techniques, release and abiotic and biotic factors can affect the development and biological characteristics, thus, requiring alternative hosts for this natural enemy. The objective of this study was to evaluate the biological characteristics of the parasitoid *P. elaeisis* reared on *Helicoverpa armigera*, *Helicoverpa zea* and *Tenebrio molitor* pupae.

2. Materials and methods

Helicoverpa armigera Hübner and *H. zea* Boddie (Lepidoptera: Noctuidae) was obtained from mass rearing of the Biological Control laboratory of Embrapa Maize and Sorghum in Sete Lagoas, Minas Gerais State, Brazil. *T. molitor* L. (Coleoptera:Tenebrionidae) from the laboratory of Biological Control at the Federal University of Viçosa (UFV) in Viçosa, Minas Gerais.

2.1. Mass rearing

2.1.1 *Tenebrio molitor*

Tenebrio molitor was reared in plastic trays (39.3 x 59.5 x 7.0 cm) in a room with controlled conditions (25 ± 2 °C, $70 \pm 10\%$ relative humidity and 12:12 hours

photoperiod). The food substrate is wheat bran, pieces of sugarcane and chayote slices to complement the nutrition and supply liquids.

2.1.2 *Helicoverpa armigera* and *Helicoverpa zea*

Adults *H. armigera* and *H. zea* were kept in wooden cages (30 x 30 x 30 cm) with screened sides, lined with paper and glass lid at room temperature (25 ± 2 °C, $70 \pm 10\%$ relative humidity and 12:12 hours photoperiod) with nutrient solution soaked in cotton at the bottom of the cages. Every two days, the papers containing *H. armigera* and *H. zea* eggs masses were removed, cut in stripes (2.5 x 10 cm), transferred to 1000 ml plastic pots with artificial diet (Greene et al., 1976) cubes of 15 x 15 x 15 mm for newly hatched larvae. One day after reaching third instar *H. armigera* and *H. zea* larvae were individualized in transparent 50 ml pots with artificial diet "ad libitum" until pupation. Food replacement and aseptic conditions of the pots were performed every 48 hours.

2.1.3. Mass rearing *Palmistichus elaeisis*

Palmistichus elaeisis adults with 72 h-old (Pereira et al., 2009, 2010) were maintained in glass tubes (14x2.2 cm) plugged with cotton, with honey droplets as food. *Tenebrio molitor* pupae with 24- old were exposed to parasitism for 48 hours at temperature of 25 ± 2 °C, $70 \pm 10\%$ relative humidity and 12:12 hours photoperiod (Zanuncio et al., 2008; Pereira et al., 2010).

2.2 *Palmistichus elaeisis* parasitism

Helicoverpa armigera pupae (384.71 ± 9.0 mg), *H. zea* (466.19 ± 17 mg), and *T. molitor* (95 ± 2.93 mg) 24 h-old were individualized with 72 h-old *P. elaeisis* mated females during 48 hours (Pereira et al., 2009, 2010). Six *P. elaeisis* females were put per *T. molitor* pupae (6: 1) (Zanuncio et al., 2008; Pereira et al., 2009, 2010), and 16 (females of parasitoid) per *H. armigera* and *H. zea* pupae due to the weight of these hosts.

Pupae and the parasitoids in glass tubes were observed daily until the emergence of the offspring. The life span from egg to adult, progeny, parasitism rates (the number of pupae parasitized divided by the total number of pupae offered to

females, multiplied by 100), emergence rates (overall percentage of pupal emergence was the number of pupae emerged with parasitoids divided by the total number of pupae offered to females, multiplied by 100), sex ratio (RS = number of females / number of adults), longevity of adults, body size, and the width of the cephalic capsule of *P. elaeisis* were obtained with ocular micrometer attached to a stereoscopic microscope (Pereira et al., 2010). The identification of sex in adults was based on morphological characteristics of the antenna and abdomen of *P. elaeisis* (Delvare & LaSalle, 1993), and its mortality has been corrected (Abbott, 1925).

Experimental design was completely randomized, with three treatments and 10 replications, each glass tube representing one replication. The data were submitted to variance analysis (ANOVA one way) and the means compared with Tukey at 5% significance, using SAS (SAS Institute, 1997). Parasitism and emergence *P. elaeisis* values were submitted to non-parametric Kruskal-Wallis test.

3. Results

Emergence and parasitism percentages of the *P. elaeisis* offspring were similar with *H. armigera*, *H. zea* and *T. molitor* pupae (Figure 1).

Progeny of *P. elaeisis* was higher with *H. armigera* and *H. zea* pupae (F= 9.89; df: 2; p= 0.0006). The number of females produced per female parasitoid was similar between hosts (F=0.74; df: 2; p= 0.4866) (Tabela 1).

The length of females (head to the abdominal end) (F=8.02; df: 2; p= 0.0009) and males (F = 6.04; df: 2; p=0.0050) bodies, the width of the head capsule of females (F= 4.24; df: 2; p=0.0192) and males (F = 4.59; df: 2; p=0.0158).

Adults (females and males) *P. elaeisis* emerged from *H. armigera* and *H. zea* pupae were higher than those from *T. molitor* (Table 1).

Life cycle (egg to adult) of *P. elaeisis* was shorter with *T. molitor* pupae than *H. armigera* and *H. zea* ones (F= 52.87; df: 2; p< 0.0001). Females longevity (F = 1.24; df: 2; p= 0.2987) and males *P. elaeisis* longevity, emerged from *H. armigera*, *H. zea* and *T. molitor* pupae was similar (F=1.69; df: 2; p= 0.1909).

Sex ratio of *P. elaeisis* was higher with *H. armigera* and *H. zea* pupae than from *T. molitor* ones (F = 13.12, df: 2; p = 0.0002) (Table 1).

4. Discussion

The nutritional quality may vary with host age, type and stage (Harvey, 2000; Harvey and Strand; 2002; López et al., 2009), as the only recourse for parasitoids idiobionts (Malcicka and Harvey, 2014). Similar percentage of *P. elaeisis* emergence on the three hosts showed that they are susceptible to parasitism by this natural enemy. This parasitoid completed the normal development with all hosts which had good acceptability by females for oviposition (Duan et al., 1997).

The similar percentage of parasitism on the three hosts shows that *P. elaeisis* can overcome the physical barriers of the hosts, as reported for this parasitoid and *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) with *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) pupae (Andrade et al., 2010). However, *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Aphidiidae) parasitizing a wide host range, presents trade-off between the biggest gain in fitness and lower parasitism rate (Colinet et al., 2005).

The progeny of *P. elaeisis* emerged from *H. armigera* and *H. zea* pupae shows effect of the higher *H. zea* weight compared to the lower number of individuals emerged in *T. molitor* due to its lower weight and size. However, a similar proportion of females produced per female on the three hosts indicate that the parasitoid identifies host quality when laying eggs. This is a common of idiobiont parasitoids, whose females can adjust the size of the offspring with the resources available (Schmidt and Smith, 1986).

The larger size offspring of *P. elaeisis* emerged with larger sizes on pupae of *H. zea* and *H. armigera*, being higher in the first host pupae, confirming the fact that host size determines the offspring of parasitoids idiobionts (Wei et al., 2014). This may be a good parameter of the nutritional quality of the host (Zaviezo and Mills, 2000), as demonstrated in the trade-off between size and host quality of *Sclerodermus harmandi* Buysson (Hymenoptera: Bethyridae) (Liu et al., 2011). However, the host-parasitoid relationship is more complex because host size cannot reflect their quality (Harvey, 2005; Häckermann et al., 2007) and each parasitoid-host interactions have to be evaluated to maximize parasitoid fitness.

The larger width of the cephalic capsule and length of *P. elaeisis* adults originated from pupae with heavy weight shows again the effect of the host, and this can be wished because pupae of Lepidoptera and Coleoptera have a hard cuticle, and at the time of the attack by *P. elaeisis* females tend to move impeding or preventing

parasitism, by this larger females may be more successful on the oviposition (Ueno, 1999). This was reported to *Pimpla nipponica* Uchida (Hymenoptera: Ichneumonidae) whose larger females had higher success in oviposition, and put greater number of eggs in the host (Ueno, 1999). Females of many species of parasitoids are larger than males, however, require more pre-marginal development time (Zaviezo and Mills, 2000; Häckermann et al., 2007). Furthermore, the increase on *P. elaeisis* progeny with increasing weight of the host, shows that must establish the optimum density parasitoids and to avoid competition between superparasitism immature individuals within the host.

Longer life cycle (egg to adult) of *P. elaeisis* in host with larger size and weight (*H. zea* and *H. armigera*) indicates more time for nutrient acquisition according host, or immature to feed longer in larger hosts (Harvey et al., 1998), or can be explained by *Hyssopus pallidus* Askew (Hymenoptera: Eulophidae) where the difference between the development time (egg to adult) in two hosts, was due to differences in embryonic development (Häckermann et al., 2007). The similar longevity of *P. elaeisis* on the hosts used, as reported for *Hyssopus pallidus* Askew (Hymenoptera: Eulophidae) whose diets or hosts not affect their longevity (Häckermann et al., 2007). However, longevity tends to be correlated to the fitness of the parasitoid (Schmale et al., 2001). However with *P. elaeisis* the host did not show any influence this parameter.

The highest *P. elaeisis* sex ratio was in larger pupae, *H. armigera* and *H. zea*, than on those of *T. molitor*, agrees with the changes in the sex ratio of *Sclerodermus pupariae* Yang et Yao (Hymenoptera: Bethyridae) according to host size (Wei et al. 2014), but this parameter was more associated with superparasitism than the host size for the parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* Ashmead (Hymenoptera: Braconidae) (Montoya et al., 2011). The production of more than 90% females of *P. elaeisis* on these three hosts is important to argumentative releases because a higher proportion of females is preferred in biological control programs, because males do not contribute to pest mortality (Heimpel and Lundgren, 2000; Ode and Heinz, 2002).

Palmistichus elaeisis showed good adaptation and acceptance of *H. armigera*, *H. zea* and *T. molitor* pupae with gains in fitness relative to body size, sex ratio and progeny emerged in higher weight hosts. This insect pests *H. armigera* and *H. zea* may be alternatives to mass rearing this parasitoid, which has potential to control these pests in the field.

Acknowledgments

To Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) and Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) for financial support.

References

Abbott, W.S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18, 265-267.

Andrade, G.S., Serrão, J.E., Zanuncio, J.C., Zanuncio, T.V., Leite, G.L.D., Polanczyk, R.A., 2010. Immunity of an alternative host can be overcome by higher densities of its parasitoids *Palmistichus elaeisis* and *Trichospilus diatraeae*. *PLoS ONE* 5, e13231.

Bittencourt, M.A.L., Berti-Filho, E., 2004. Desenvolvimento dos estágios imaturos de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera, Eulophidae) em pupas de Lepidoptera. *Rev. Bras. Entomol.* 48, 65-68.

Canale, A., Benelli, G., 2012. Impact of mass-rearing on the host seeking behavior and parasitism by the fruit fly parasitoid *Psytalia concolor* (Szépligeti) (Hymenoptera: Braconidae). *J. Pest Sci.* 85, 65-74.

Chen, Q., Peng, Z.Q., Xu, C.N., Tang, C., Lu, B.Q., Jin, Q., Wen, H.B., Wan, F.H., 2010. Biological assessment of *Tetrastichus brontispae*, a pupal parasitoid of coconut leaf beetle *Brontispa longissima*. *Biocontrol Sci. Technol.* 20, 283-295.

Colinet, H., Salin, C., Boivin, G., Hance, T., 2005. Host age and fitness-related traits in a koinobiont aphid parasitoid. *Ecol. Entomol.* 30, 473-479.

Colinet, H., Boivin, G., 2011. Insect parasitoids cold storage: A comprehensive review of factors of variability and consequences. *Biol. Control* 58, 83-95.

Delvare, G., Lasalle, J., 1993. A new genus of Tetrastichinae (Hymenoptera: Eulophidae) from the Neotropical region, with the description of a new species parasitic on key pests of oil palm. *J. Nat. Hist.* 27, 435-444.

Duan, J.J., Ahmad, M., Joshi, K., Messing, R.H., 1997. Evaluation of the impact of the fruit fly parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) on a non-target tephritid, *Eutreta xanthochaeta* (Diptera: Tephritidae). *Biol. Control* 8, 58-64.

Gil-Santana, H.R., Tavares, M.T., 2006. *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera, Eulophidae): a new parasitoid of *Dione juno juno* (Cramer) (Lepidoptera, Nymphalidae). Rev. Bras. Zool. 23, 891-892.

Greene, G.L., Leppla, N.C., Dickerson, W.A., 1976. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. J. Econ. Entomol. 69, 487-488.

Häckermann, J., Rott, A.S., Dorn, S., 2007 How two different host species influence the performance of a gregarious parasitoid: host size is not equal to host quality. J. Anim. Ecol. 76, 376-383.

Harvey, J.A., Vet, L.E.M., Jiang, N.Q., Gols, R., 1998. Nutritional ecology of the interaction between larvae of the gregarious ectoparasitoid, *Muscidifurax raptorellus* (Hymenoptera: Pteromalidae), and their pupal host, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). Physiol. Ent. 23, 113-120.

Harvey, J.A., 2000. Dynamic effects of parasitism by an endoparasitoid wasp on the development of two host species: Implications for host quality and parasitoid fitness. Ecol. Entomol. 25, 267-278.

Harvey, J.A., 2005. Factors affecting the evolution of development strategies in parasitoid wasps: the importance of functional constraints and incorporating complexity. Entomol. Exp. Appl. 117, 1-13.

Harvey, J.A., Strand, M.R., 2002. The developmental strategies of endoparasitoid wasps vary with host feeding ecology. Ecology 83, 2439-2451.

Harvey, J.A., Gols, R., Snaas, H., Malcicka, M., Visser, B., 2015. Host preference and offspring performance are linked in three congeneric hyperparasitoid species. Ecol. Entomol. 40, 114-122.

Heimpel, G.E., Lundgren, J.G., 2000. Sex ratios of commercially reared biological control agents. Biol. Control 19, 77-93.

Henry, L.M., May, N., Acheampong, S., Gillespie, D.R., Roitberg, B.D., 2010. Host-adapted parasitoids in biological control: Does source matter? Ecol. Appl. 20, 242-250.

Jones, T.S., Bilton, A.R., Mak, L., Sait, S. M., 2015. Host switching in a generalist parasitoid: contrasting transient and transgenerational costs associated with novel and original host species. Ecol. Evol. 5, 459-465.

Lee, J.H., Pemberton, R.W., 2010. Pupal parasitoids of *Yponomeuta malinellus* (Lepidoptera: Yponomeutidae) in northeast Asia. Fla. Entomol. 93, 45- 51.

Liu, Z., Xu, B., Li, L., Sun, J., 2011. Host-Size mediated trade-off in a parasitoid *Sclerodermus harmandi*. PLoS ONE. 6, e23260.

López, O.P., Hénaut, Y., Cancino, J., Lambin, M., Cruz-López, L., Rojas, J.C., 2009. Is host size an indicator of quality in the mass-reared parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera, Braconidae)? Fla. Entomol. 92, 441-449.

Luo, S., Naranjo, S.E., Wua, K., 2014. Biological control of cotton pests in China. Biol. Control 6, 6-14.

Malcicka, M., Harvey, J.A., 2014. Trade-offs between developmental parameters of two endoparasitoids developing in different instars of the same host species. Biol. Control 74, 52-58.

Mckay, T., Broce, A., 2008. Host size and oviposition site effects on sex ratio of pupal parasitoid *Muscidifurax zaraptor* (Hymenoptera: Pteromalidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 101, 650-655.

Montoya, P., Cancino, J., Perez-Lachaud, G., Liedo, P., 2011. Host size, superparasitism and sex ratio in mass-reared *Diachasmimorpha longicaudata*, a fruit fly parasitoid. BioControl 56, 11-17.

Ode, P.J., Heinz, K.M., 2002. Host-size-dependent sex ratio theory and improving mass-reared parasitoid sex ratios. Biol. Control 24, 31-41.

Pereira, F.F., Zanuncio, J.C., Serrão, J.E., Oliveira, H.N., Kellen, F., Grance, E.L.V., 2009. Progenie de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) parasitando pupas de *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) de diferentes idades. Neotrop. Entomol. 38, 660-664.

Pereira, F.F., Zanuncio, J.C., Serrão, J. E., Zanuncio, T.V., Pratisoli, D., Pastori, P.L., 2010. The density of females of *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). An. Acad. Bras. Cienc. 82, 323-331.

Rodriguez, D.F.A., Costa, V.H.D., Valicente, F.H, Ramalho, F.S., Serrão, J.E., Zanuncio, J.C., 2016a. *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae), a biological control agent of lepidopteran pests of corn in Brazil (capitulo 1 to Florida Entomologist)

Rodriguez, D.F.A., Poderoso, J.C.M., Ribeiro, R.C., Brügger, B.P., Wilcken, C.F., Serrão, J.E., Zanuncio, J.C. 2016b. *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) Parasitizing pupae of the passion fruit pest *Agraulis vanillae vanillae* (Lepidoptera: Nymphalidae). Fla. Entomol. 99, 130-132.

Rousse, P., Gourdon, F., Roubaud, M., Chiroleu, F., Quilici, S., 2009. Biotic and abiotic factors affecting the flight activity of *Fopius arisanus*, an egg-pupal parasitoid of fruit fly pests. *Environ. Entomol.* 38, 896-903.

SAS, Institute. 1997. *SAS, User's guide: statistics* SAS Institute, Cary, NC.

Schmale, I., Wäckers, F.L., Cardona, C., Dorn, S., 2001. Control potential of three hymenopteran parasitoid species against the bean weevil in stored beans: the effect of adult parasitoid nutrition on longevity and progeny production *Biol. Control* 21, 134-139.

Schmidt, J.M., Smith, J.J.B., 1986. Correlations between body angles and substrate curvature in the parasitoid wasp *Trichogramma minutum*: a possible mechanism of host radius measurement. *J. Exp. Biol.* 125, 271-285.

Tavares, W.S., Hansson, C., Serrão, J.E., Zanuncio, J.C., 2012a. Emergence of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) from pupae of *Thagona tibialis* (Lepidoptera: Lymantriidae) collected in the medicinal plant *Terminalia catappa* (Combretaceae). *Entomol. News* 122, 250-256.

Tavares, W.S., Mielke, O.H.H., Wilcken, C.F., Simon, L., Serrão, J.E., Zanuncio, J.C., 2012b. *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing pupae of *Citioica anthonilis* (Lepidoptera: Saturniidae) collected on *Piptadenia gonoacantha* (Fabaceae). *J. Lepid. Soc.* 66, 216-220.

Tavares, W.S., Soares, M.A., Mielke, O.H.H., Poderoso, J.C.M., Serrão, J.E., Zanuncio, J.C., 2013. Emergence of *Palmistichus elaeisis* (Delvare & LaSalle, 1993) (Hymenoptera: Eulophidae) from pupae of *Heraclides anchisiades capys* (Hübner, 1809) (Lepidoptera: Papilionidae) in the laboratory. *Folia Biol-Krakow* 61, 233-237.

Ueno, T., 1999. Host-size-dependent sex ratio in a parasitoid wasp. *Res. Popul. Ecol.* 41, 47-57.

Vacari, A.M., De Bortoli, S.A., Borba, D.F., Martins, M.I.E.G., 2012. Quality of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) reared at different host densities and the estimated cost of its commercial production. *Biol. Control* 63, 102-106.

Watt, T.J., Duan, J.J., 2014. Influence of host age on critical fitness parameters of *Spathius galinae* (Hymenoptera: Braconidae), a new parasitoid of the emerald ash borer (Coleoptera: Buprestidae). *J. Econ. Entomol.* 107, 1320-1329.

Wei, K., Tang, Y-L., Wang, X-Y., Cao, L-M., Yang, Z-Q., 2014. The developmental strategies and related profitability of an idiobiont ectoparasitoid *Sclerodermus pupariae* vary with host size. *Ecol. Entomol.* 39, 101-108.

Zanuncio, J.C., Pereira, F.F., Jacques, G.C., Tavares, M.T., Serrão, J.E., 2008. *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae), a new alternative host to rear the pupae parasitoid *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae). *Coleopts. Bull.* 62, 64-66.

Zaviezo, T., Mills, N., 2000. Factors influencing the evolution of clutch size in a gregarious parasitoid. *J. Anim. Ecol.* 69, 1047-1057.

Table 1. Average weight, progeny per pupa (Prog.), females produced per female (Females), female body length (Female length), male body length (Male length), width of the cephalic capsule female (Female width), width of head capsule of males (Male width), females longevity (Female long.), male longevity (Male long.) (mean \pm standard error) of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) reared on pupae of *Helicoverpa armigera*, *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae), and *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) (n = 10)

Characteristics	<i>H. armigera</i>	<i>H. zea</i>	<i>T. molitor</i>
Weight (mg)	384.71 \pm 9.222	466.19 \pm 17.350	95.32 \pm 2.930
Prog.	191.42 \pm 19.542 A	244.70 \pm 32.512 A	88.55 \pm 12.771 B
Females	11.68 \pm 1.221 A	14.98 \pm 2.034 A	13.15 \pm 2.134 A
Female length (mm)	1.76 \pm 0.040 A	1.65 \pm 0.062 A	1.53 \pm 0.073 B
Male length (mm)	1.32 \pm 0.030 A	1.31 \pm 0.046 A	1.13 \pm 0.125 B
Female width (mm)	0.47 \pm 0.010 A	0.44 \pm 0.014 A	0.41 \pm 0.032 B
Male width (mm)	0.37 \pm 0.010 A	0.35 \pm 0.022 A	0.33 \pm 0.040 B
Life cycle (days)	24.60 \pm 0.498 B	24.78 \pm 0.467 B	19.73 \pm 0.520 A
Female long. (days)	18.17 \pm 0.215 A	19.37 \pm 0.244 A	18.65 \pm 0.688 A
Male long. (days)	16.93 \pm 0.689 A	18.67 \pm 0.343 A	18.32 \pm 1.053 A
Sex ratio	0.97 \pm 0.010 A	0.97 \pm 0.004 A	0.90 \pm 0.020 B

*Means followed by the same letter per line do not differ by Tukey test ($P \geq 0.05$).

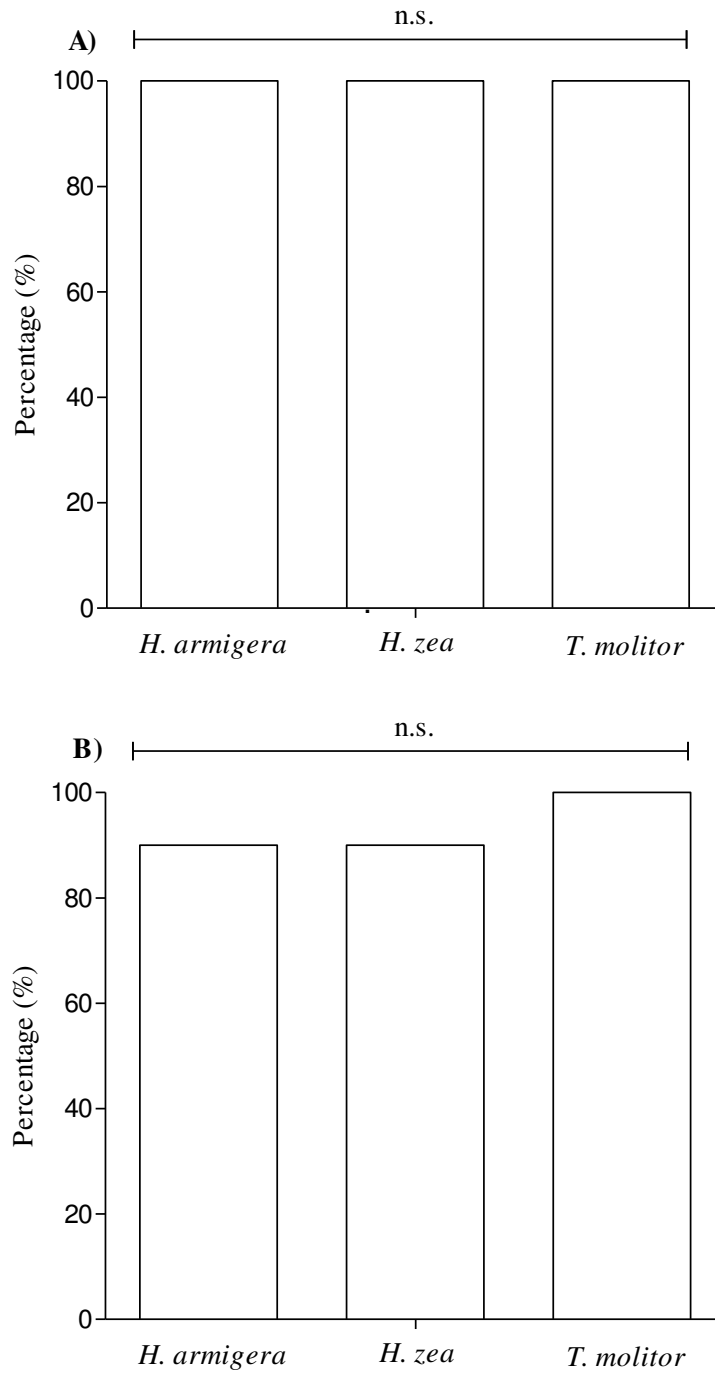


Figure 1- Parasitism (A) and emergence (B) (percentage) of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) reared on *Helicoverpa armigera*, *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) pupae. Parameters with the same line do not differ by the nonparametric Kruskal-Wallis test ($P \leq 0.05$).

CAPÍTULO 3

**Parasitismo e reprodução de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) em
Helicoverpa armigera e *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae)**

Artigo nas normas da *Ecological Entomology*

Parasitismo e reprodução de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) em *Helicoverpa armigera* e *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae)

Francisco Andrés Rodríguez Dimaté^{1*}, Fernando Hercos Valicente², José Eduardo Serrão³ and José Cola Zanuncio^{1*}.

¹Departamento de Entomologia/BIOAGRO, Universidade Federal de Viçosa, 36570-900 Viçosa, Minas Gerais, Brasil. Tel.: + 55 (31) 3899-4014 Fax.: + 55 (31) 3899-4012

² Embrapa Milho e Sorgo, Rod. MG 424 KM 65, 35701-970 Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil.

³Departamento de Biologia, Universidade Federal de Viçosa, 36570-900 Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

* Author for correspondence: E-mail: zanuncio@ufv.br

Resumo

1. Os efeitos do hospedeiro e a densidade de parasitismo são importantes nas criações massais para liberações aumentativas dos parasitoides, porém a importância na identificação, definição da densidade ideal de fêmeas por pupa do hospedeiro para viabilizar a sua produção, uma vez que as interações entre parasitoide-hospedeiro são únicas, apresentam variações, e são impossíveis de generalizar, existindo a importância de serem avaliadas para maximizar o fitness dos parasitoides.

2. Objetivo deste trabalho foi avaliar as características biológicas de diferentes densidades do endoparasitoide idiobionte de pupas *Palmistichus elaeisis* parasitando pupas dos hospedeiros *Helicoverpa armigera*, e *Helicoverpa zea*.

3. Uma fêmea de *P. elaeisis* não neutralizou a defesa imunológica destes hospedeiros. Quatro fêmeas por pupa foram suficientes para o parasitismo em pupas de *H. armigera*,

e *H. zea*. As características biológicas avaliadas de *P. elaeisis* mostram que as densidades apropriadas para criação massal em pupas *H. armigera* e *H. zea* é de 12 a 20 fêmeas.

4. O superparasitismo por *P. elaeisis*, em pupas de *H. armigera* e *H. zea*, diminuiu a porcentagem de emergência da progênie, a longevidade, o tamanho da capsula cefálica e o comprimento do corpo de adultos desse parasitoide.

Palavras chaves: Densidade de parasitismo, *Helicoverpa*, idiobionte, superparasitismo.

Introdução

A utilização de parasitoides no controle biológico é bem sucedida (Heimpel & Lundgren, 2000; Henry *et al.*, 2010; Colinet & Boivin, 2011), mas técnicas eficientes de criação massal desses inimigos naturais devem ser desenvolvidas, pois fatores como especificidade do hospedeiro, tamanho do hospedeiro (López *et al.*, 2009; Montoya *et al.*, 2011; Rodriguez *et al.*, 2016a), idade do hospedeiro (Schmale *et al.*, 2005), densidade do hospedeiro (Schmale *et al.*, 2005; Chong & Oetting, 2006; Kraft & Nouhuys, 2013) e densidade do parasitoide (Pereira *et al.*, 2010; Costa *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2014) podem afetar o desenvolvimento desses inimigos naturais (Harvey, 2000; Colinet & Boivin, 2011; Vacari *et al.*, 2012)

A eficiência na criação de parasitoides pode ser melhorada com densidades adequadas do hospedeiro (Kraft & Nouhuys, 2013) e do parasitoide (Pereira *et al.*, 2010; Costa *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2014). Além disso, qualidade, tamanho, idade, resistência mecânica, capacidade nutricional e resposta imunológica dos parasitoides devem ser consideradas para a seleção de hospedeiros alternativos (Godfray, 1994). A identificação e definição da densidade ideal das fêmeas do parasitoide por pupa do hospedeiro devem ser obtidas para viabilizar a produção destes inimigos naturais (Pereira *et al.*, 2010).

O parasitismo depende da capacidade da fêmea em superar o sistema imunológico do hospedeiro (Strand, 2008, Andrade *et al.*, 2010). No entanto, densidades de larvas no interior do hospedeiro acima da capacidade podem causar o superparasitismo, especialmente em hospedeiros menores (Shuker *et al.*, 2005). Isto pode ocorrer quando a fêmea parasitoide oviposita em hospedeiro já parasitado, por ela mesma ou por outra fêmea da mesma espécie (Godfray, 1994). Densidades baixas podem comprometer a capacidade dos parasitoides em suprimir as defesas dos hospedeiros (Chong & Oetting, 2006, Andrade *et al.*, 2010, Pereira *et al.*, 2010), não conseguindo parasitar o hospedeiro. Além disso, a prole produzida em hospedeiros superparasitados é, em geral, constituída por indivíduos com maior tempo de desenvolvimento, menor longevidade e fecundidade devido á competição por recursos no hospedeiro (Sousa & Spence, 2000).

Parasitoides podem ser solitários e gregários (Godfray, 1994), podendo este último se beneficiar do superparasitismo em casos de ausência de hospedeiros adequados para seu desenvolvimento (Dorn & Beckage, 2007). No entanto, em condições massivas de superparasitismo, um excedente de parasitoides imaturos pode causar a morte de indivíduos do parasitoide e hospedeiro (Dorn & Beckage, 2007). O número de fêmeas de parasitoides por hospedeiro deve ser estudado no controle de qualidade de criações em laboratório para liberações massais (Montoya *et al.*, 2000; Pereira *et al.*, 2010)

Palmistichus elaeisis (Delvare & LaSalle) endoparasitoide gregário idiobionte de pupas de Lepidoptera como Arctiidae (Delvare & LaSalle, 1993), Bombycidae (Pereira *et al.*, 2009), Crambidae, Geometridae (Bittencourt & Berti filho, 2004), Lymantriidae (Tavares *et al.*, 2012a), Noctuidae (Bittencourt & Berti filho, 2004; Rodriguez *et al.*, 2016b), Nymphalidae (Gil-Santana & Tavares, 2006; Rodriguez *et al.*,

2016c), Papilionidae (Tavares *et al.*, 2013), Riodinidae (Delvare & LaSalle, 1993), Saturniidae (Tavares *et al.*, 2012b), e (Coleoptera: Tenebrionidae) (Zanuncio *et al.*, 2008). Este parasitoide pode ser utilizado no controle dos principais lepidópteros pragas do eucalipto (Zanuncio *et al.*, 2008), milho (Rodriguez *et al.*, 2016b) e maracujazeiro (Gil-Santana & Tavares, 2006; Rodriguez *et al.*, 2016c).

Parasitoides são eficientes no controle de insetos pragas, mas a qualidade da progênie depende dos hospedeiros utilizados para sua criação (Rodriguez *et al.*, 2016a). Além disso, diversos fatores podem afetar o seu desenvolvimento (Godfray, 1994). O objetivo foi avaliar as características biológicas de *P. elaeisis* com diferentes densidades de fêmeas desse parasitoide por pupa dos hospedeiros *Helicoverpa armigera*, e *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae)

Matérias e Métodos

Indivíduos de *H. armigera* e *H. zea* foram obtidos da criação massal do Núcleo de Biologia Aplicada (NBA) do Laboratório de Entomologia da Embrapa Milho e Sorgo em Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil.

Criação de H. armigera e H. zea

Adultos de *H. armigera* e *H. zea* foram mantidos em gaiolas de madeira (30 x 30 x 30 cm) com as laterais teladas, recobertas com papel e com tampa de vidro em sala climatizada (temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de UR e 12 horas de fotofase), com solução nutritiva embebida em algodão no fundo das gaiolas. A cada dois dias, os papéis contendo posturas destes lepidópteros foram retirados, cortados em tiras (2.5 x 10 cm), transferidos para potes plásticos de 1000 mL com dieta artificial (Greene *et al.*, 1976) em cubos de 15 x 15 x 15 mm para as lagartas recém-eclodidas. Um dia após mudar para o terceiro estágio, as lagartas de *H. armigera* e *H. zea* foram individualizadas

em potes transparentes de 50 mL com dieta “*ad libitum*”, até a pupação. A reposição desse alimento e a assepsia dos potes foram realizadas a cada 48 horas.

Criação de P. elaeisis

Adultos de *P. elaeisis* com 72 horas de idade, foram mantidos em tubos de vidro (14 x 2.2 cm) tampados com algodão, com gotículas de mel no interior para alimentação. Pupas de *T. molitor* com, até, 24 horas de idade foram expostas ao parasitismo por fêmeas copuladas de *P. elaeisis* durante 48 horas, à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas (Zanuncio *et al.*, 2008).

Densidade de P. elaeisis

Pupas de *H. armigera* (350 a 390.00 mg) e de *H. zea* (450 a 500 mg), com até 24 horas de idade foram individualizadas com as densidades de fêmeas de *P. elaeisis*, com 72 horas de emergência e copuladas, durante 48 horas (Pereira *et al.*, 2009). As densidades 1, 4, 8, 12, 16, 20, 24 e 28:1 (fêmeas do *P. elaeisis*) foram colocadas por pupa de *H. armigera* e de *H. zea*.

Parâmetros avaliados

Pupas e os parasitoides em tubos foram observados diariamente até a emergência dos descendentes. A duração do ciclo de vida (ovo-adulto), o número de indivíduos, a porcentagem de parasitismo (número de pupas parasitadas/total de pupas) e de emergência da progênie, a razão sexual (RS= número de fêmeas/ número de adultos), o tamanho do corpo, a largura da capsula cefálica foram avaliadas com ocular micrométrica acoplada a microscópio estereoscópico (Pereira *et al.*, 2010). A longevidade de 15 machos e 30 fêmeas recém emergidas de *P. elaeisis* e alimentados com mel foi avaliada por tratamento. O sexo dos adultos foi determinado baseada nas

características morfológicas da antena e do abdome de *P. elaeisis* (Delvare & LaSalle, 1993) e a mortalidade natural desse parasitoide foi corrigida (Abbott, 1925).

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com 10 repetições. A longevidade, a capsula cefálica e tamanho do corpo foram obtidas de 15 machos e 30 fêmeas escolhidos ao acaso dos descendentes de cada tratamento. Os dados foram submetidos à análise de variância ANOVA (one way) e as médias significativas comparadas com o teste Tukey a 5% de significância com o software estatístico SAS (SAS Institute, 1997). Valores da porcentagem de parasitismo e de emergência de *P. elaeisis* foram analisados pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis.

Resultados

Helicoverpa armigera

A porcentagem de parasitismo, com 0% de parasitismo na densidade 1:1 e de 70 a 80% nas densidades de 4:1, 8:1, e 12:1 e de 100% em pupas de *H. armigera* com 6:1, 20:1, 24:1 e 28:1 ($\chi^2= 47.72$; $df= 7$; $p \leq 0.0001$) (Fig. 1a). A porcentagem de emergência de *P. elaeisis* variou de 70 e 90% nas densidades de 8:1, 12:1, 16:1, 20:1, 24:1 e 28:1 e na de 4:1 foi de 50 % ($\chi^2= 28.58$; $df= 7$; $p =0.0002$) (Fig. 1a).

A duração do ciclo de vida (ovo–adulto) de *P. elaeisis* em pupas de *H. armigera* ($F =55.80$; $df= 7$ $p \leq 0.0001$) diferiu entre as densidades de 1:1 comparada com as densidades 4, 8, 12, 16, 20, 24 e 28:1, estas densidades não apresentaram diferença estadística (Tabela 1).

A progênie de *P. elaeisis* por pupa de *H. armigera* ($F = 5.47$; $df= 7$; $p \leq 0.0001$) foi diferente, sendo menor com as densidades de 1 e 4 com 0 a 44,20 descendentes por pupa e maior nas densidades de 8, 12, 16, 20, 24, 28:1 (Tabela 1).

A razão sexual diferiu entre as densidades, mas foi semelhante nas densidades de 4, 8, 12, 16, 20, 24 e 28:1 ($F = 220.62$; $df = 7$; $p \leq 0.0001$) (Tabela 1). A longevidade de fêmeas de *P. elaeisis* emergido de pupas de *H. armigera* diferiu entre as densidades desse parasitoide, sendo maior na de 4:1 e menor na de 28:1 ($F = 268.93$; $df = 7$; $p \leq 0.0001$). (Tabela 1).

A longevidade de fêmeas ($F = 268,93$; $df = 7$; $p \leq 0.0001$) de *P. elaeisis* foi maior na densidade de 4:1 e menor na de 28:1, apresentando uma diminuição com o aumento da densidade, na longevidade dos machos de *P. elaeisis* ($F = 100.30$; $df = 7$; $p \leq 0.0001$) foi apresentado o mesmo comportamento sendo menor na densidade de 28:1. (Tabela 1).

A largura da cápsula cefálica de adultos de *P. elaeisis* diferiu entre tratamentos para fêmeas ($F = 385.95$; $df = 7$; $p \leq 0.0001$) e machos ($F = 170.39$; $df = 7$; $p \leq 0.0001$) apresentando uma diminuição com o aumento da densidade (Tabela 2).

O comprimento do corpo de adultos de *P. elaeisis* variou com as densidades para fêmeas foi ($F = 441.64$; $df = 7$ $p \leq 0.0001$) e machos ($F = 108.96$; $df = 7$ $p \leq 0.0001$) sendo menor com o aumento da densidade de fêmeas de *P. elaeisis* (Tabela 2).

Helicoverpa zea

A porcentagem de parasitismo de *P. elaeisis* em pupas de *H. zea* foi de 0%, na densidade 1:1, e 100% nas densidades 4, 8, 12, 16, 20, 24 e 28 ($\chi^2 = 78.00$; $df = 7$; $p \leq 0.0001$) (Fig. 1b). A porcentagem de emergência de *P. elaeisis* variou de 88 e 100%, maior nas densidades de 12:1, 16:1; 20:1, 24:1 e 28:1 ($\chi^2 = 58.69$; $df = 7$; $p \leq 0.0001$) (Fig. 1b).

A duração do ciclo de vida (ovo–adulto) de *P. elaeisis* em pupas de *H. zea* ($F = 3.47$; $df = 7$; $p = 0.0030$) as densidades de 4, 8, 12, 16, 20, 24 e 28:1, foram diferentes

estatisticamente da densidade 1:1 (Tabela 3). As densidades de 4, 8, 12, 16, 20, 24 e 28:1 não apresentarem diferenças significativas.

A progênie de *P. elaeisis* por pupa de *H. zea* ($F = 8.19$; $df = 7$; $p \leq 0.0001$) diferiu entre as densidades desse parasitoide, sendo menor na de 28:1 e maior nas de 12, 16 e 20 (Tabela 3).

A razão sexual de *P. elaeisis* não diferiu entre as densidades de 4, 8, 12, 16, 20, 24 e 28:1 ($F = 3.59$; $df = 7$; $p = 0.0024$) (Tabela 3). A longevidade das fêmeas de *P. elaeisis* emergido de pupas de *H. armigera* foi ($F = 417.32$; $df = 7$; $p \leq 0.0001$) maior na densidade de 4:1 para fêmeas e menor na densidade de 28:1, para os machos a longevidade ($F = 243.56$; $df = 7$; $p \leq 0.0001$) foi menor na densidade de 28:1, e maior na densidade de 4:1 (Tabela 3).

A largura da cápsula cefálica e comprimento de adultos de *P. elaeisis* maior nas densidades de 4:1 e 8:1 para fêmeas ($F = 220.71$; $df = 7$; $p \leq 0.0001$, ($F = 226.40$; $df = 7$; $p \leq 0.0001$) e para os machos de ($F = 63.80$; $df = 7$; $p \leq 0.0001$, ($F = 154.43$; $df = 7$; $p \leq 0.0001$) (Tabela 4).

Discussão

As porcentagens de parasitismo de *P. elaeisis* em pupas de *H. armigera* e *H. zea* com a densidade de 1:1 (uma fêmea de parasitoide por uma pupa do hospedeiro) mostrou que uma fêmea deste parasitoide não consegue neutralizar a ação imunológica dos hospedeiros. No entanto, o parasitismo de 85% em média de *H. armigera* e de 95% em *H. zea* mostra que densidades maiores conseguem romper as barreiras físicas dos hospedeiros. Isto é semelhante ao relatado para *Anticarsia gemmatalis* Hubner (Lepidoptera: Erebidae), com redução total do número de hemócitos desse hospedeiro com cinco fêmeas de *P. elaeisis* por pupa do mesmo (Andrade *et al.*, 2010),

evidenciando que com o aumento da densidade do parasitoide pode ser reduzido o número total dos hemócitos na hemolinfa e a taxa de encapsulamento por pupas parasitadas (Andrade *et al.*, 2010).

A percentagem de emergência apresentado pelo parasitoide nestes hospedeiros foi influenciada pela densidade das fêmeas, no entanto, a menor porcentagem de emergência com a densidade de 4:1 parasitoides por pupa foi de 50% em *H. armigera* e de 80% em *H. zea*, apresentando um aumento da emergência com o aumento da densidade. Isto demonstra a adequabilidade ao hospedeiro para o desenvolvimento dos parasitoides (Duan *et al.*, 1997).

O ciclo de vida (ovo–adulto) de *P. elaeisis* semelhante em pupas de *H. armigera* e *H. zea* com quatro a 28 parasitoides por pupa destes hospedeiros diferiu do relatado para esse parasitoide em pupas de *A. gemmatalis* e *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) apresentando uma redução na duração do ciclo de vida (Pereira *et al.*, 2010; Pastori *et al.*, 2012), e em *Trichospilus diatraeae* Margabandhu & Cherian (Hymenoptera: Eulophidae) com duração do ciclo de vida proporcional ao incremento da densidade de parasitismo (Silva *et al.*, 2014). Os resultados evidenciam que cada parasitoide-hospedeiro possui interações diferentes que devem ser avaliadas para maximizar o fitness dos mesmos (Rodriguez *et al.*, 2016a).

A maior progênie de *P. elaeisis* em pupas de *H. armigera* foi apresentada nas densidades acima 12 e com uma diminuição naquelas acima de 20 parasitoides por pupa. A diminuição da progênie de *P. elaeisis* em pupas de *H. zea* nas densidades 12, 16 e 20 é semelhante ao relatado para *Tetrastichus brontispae* Ferriere (Hymenoptera: Eulophidae) (Tang *et al.*, 2014), devido ao superparasitismo e a competição dos imaturos pelos recursos (Sousa & Spence, 2000; Riddick, 2008). Além disso, a progênie do parasitoide pode variar com o tamanho, tipo e qualidade do hospedeiro (Godfray,

1994; Malcicka & Harvey, 2014). Fêmeas de *Anagyrus kamali* Moursi (Hymenoptera: Encyrtidae) apresentaram forte tendência de evitar o superparasitismo em *Maconellicoccus hirsutus* Green (Hemiptera: Pseudococcidae) (Sagarra *et al.*, 2000), mas *P. elaeisis* apresentou evidencia de superparasitismo com o aumento de densidade.

A razão sexual *P. elaeisis* nas pupas de *H. armigera* e *H. zea* foi semelhante entre as densidades testadas, no entanto, em algumas espécies a razão sexual pode ser alterada pelo superparasitismo (Riddick, 2007), o número de parasitoides, densidade e qualidade do hospedeiro podem afetar este parâmetro (Godfray, 1994). O superparasitismo não afetou a razão sexual do *P. elaeisis* como relatado para *A. kamali* Moursi (Hymenoptera: Encyrtidae) (Sagarra *et al.*, 2000). A maioria da progênie de *P. elaeisis* foi de fêmeas, o que é desejado nos programas de controle biológico.

A redução da longevidade de *P. elaeisis* com o aumento da densidade de suas fêmeas por pupa de *H. armigera* e *H. zea* é semelhante ao relatado para *T. diatraeae* parasitando pupas de *Diaphania hyalinata* L. (Lepidoptera: Crambidae) (Silva *et al.*, 2014). No entanto, os descendentes de hospedeiros superparasitados tendem a apresentar menor longevidade devido à competição por recursos no hospedeiro (Sousa & Spence, 2000; Silva-Torres *et al.*, 2009).

Os menores comprimentos do corpo e a largura da capsula cefálica de fêmeas e machos de *P. elaeisis* com o aumento da densidade desse parasitoide deve-se a competição dos imaturos pelos recursos (Sousa & Spence, 2000; Riddick, 2008), como relatado para *T. diatraeae* com menores larguras da capsula cefálica com o aumento da densidade (Silva *et al.*, 2014). Isto é importante, pois fêmeas maiores emergidas em menores densidades de parasitoides podem ter maior sucesso de oviposição, como relatado para *Pimpla nipponica* Uchida (Hymenoptera: Ichneumonidae), (Ueno, 1999), e o tamanho do parasitoide pode influenciar a escolha do hospedeiro, pois uma fêmea

pequena pode ser incapaz de dominar um hospedeiro grande e de boa qualidade (Sagarra *et al.*, 2001). O tamanho do corpo dos machos e fêmeas de *A. kamali* diminuiu com o aumento do número de indivíduos por hospedeiro, o que diminuiria, também, o fitness reprodutivo dos descendentes (Sagarra *et al.*, 2000, 2001).

A ausência de parasitismo de uma fêmea de *P. elaeisis* por pupa de *H. armigera* e *H. zea*, e o parasitismo com densidades superiores a quatro parasitoides por pupa hospedeira mostra a necessidade de definir este parâmetro para criação desse parasitoide, pois proporções reduzidas parasitoide /hospedeiro podem inviabilizar as mesmas (Montoya *et al.*, 2000).

Palmistichus elaeisis apresentou superparasitismo com o aumento da densidade de suas fêmeas por pupa dos hospedeiros *H. armigera* e *H. zea*. Isto diminuía a porcentagem de emergência, a longevidade, o tamanho da capsula cefálica e o comprimento do corpo dos adultos desse parasitoide. Quatro fêmeas de *P. elaeisis* por pupa desses hospedeiros podem ser suficientes para obter parasitismo, mas densidades de 12 a 20 fêmeas por pupa poderiam ser utilizadas para a produção massal desse parasitoide em pupas de *H. armigera* e *H. zea*.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

Referencias

Abbott, W.S. (1925) A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, **18**, 265–267.

Andrade, G.S., Serrão, J.E., Zanuncio, J.C., Zanuncio, T.V., Leite, G.L.D. & Polanczyk, R.A. (2010) Immunity of an alternative host can be overcome by higher densities of its parasitoids *Palmistichus elaeisis* and *Trichospilus diatraeae*. *PLoS ONE*, **5**, e13231.

Bittencourt, M.A.L. & Berti-Filho, E. (2004) Desenvolvimento dos estágios imaturos de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera, Eulophidae) em pupas de Lepidoptera. *Revista Brasileira de Entomologia*, **48**, 65–68.

Chong, J.H. & Oetting, R.D. (2006) Functional response and progeny production of the Madeira mealybug parasitoid, *Anagyrus* sp. nov. nr. *sinope*: The effects of host and parasitoid densities. *Biological Control*, **39**, 320–328.

Colinet, H. & Boivin, G. (2011) Insect parasitoids cold storage: A comprehensive review of factors of variability and consequences. *Biological Control*, **58**, 83–95.

Costa, D.P., Pereira, F.F., Kassab, S.O., Rossoni, C., Pastori, P.L. & Zanuncio, J.C. (2014) *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) in different densities and periods of parasitism on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) caterpillars. *Annals of the Entomological Society of America*, **107**, 961–966.

Delvare, G. & Lasalle, J. (1993) A new genus of Tetrastichinae (Hymenoptera: Eulophidae) from the Neotropical region, with the description of a new species parasitic on key pests of oil palm. *Journal of Natural History*, **27**, 435–444.

Dorn, S. & Beckage, N.E. (2007) Superparasitism in gregarious hymenopteran parasitoids: ecological, behavioural and physiological perspectives. *Physiological Entomology*, **32**, 199–211.

Duan, J.J., Ahmad, M., Joshi, K. & Messing, R. H. (1997) Evaluation of the impact of the fruit fly parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera:

Braconidae) on a non-target tephritid, *Eutreta xanthochaeta* (Diptera: Tephritidae). *Biological Control*, **8**, 58–64.

Gil-Santana, H.R. & Tavares, M.T. (2006) *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera, Eulophidae): a new parasitoid of *Dione juno juno* (Cramer) (Lepidoptera, Nymphalidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, **23**, 891–892.

Greene, G.L., Leppla, N.C. & Dickerson, W.A. (1976) Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. *Journal of Economic Entomology*, **69**, 487–488.

Godfray, H.C.J. (1994) *Parasitoids: Behavioral and Evolutionary Ecology*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.

Harvey, J.A. (2000) Dynamic effects of parasitism by an endoparasitoid wasp on the development of two host species: Implications for host quality and parasitoid fitness. *Ecological Entomology*, **25**, 267–278.

Heimpel, G.E. & Lundgren, J.G. (2000) Sex ratios of commercially reared biological control agents. *Biological Control*, **19**, 77–93.

Henry, L.M., May, N., Acheampong, S., Gillespie, D.R. & Roitberg, B.D. (2010) Host-adapted parasitoids in biological control: Does source matter?. *Ecological Applications*, **20**, 242–250.

Kraft, T.S., & van Nouhuys, S. (2013) The effect of multi-species host density on superparasitism and sex ratio in a gregarious parasitoid. *Ecological Entomology*, **38**, 138–146.

López, O.P., Hénaut, Y., Cancino, J., Lambin, M., Cruz-López, L. & Rojas, J.C. (2009) Is host size an indicator of quality in the mass-reared parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera, Braconidae)? *Florida Entomologist*, **92**, 441–449.

Malcicka, M. & Harvey, J.A. (2014) Trade-offs between developmental parameters of two endoparasitoids developing in different instars of the same host species. *Biological Control*, **74**, 52–58.

Montoya, P., Liedo, P., Benrey, B., Barrera, J.F., Cancino, J. & Aluja, M. (2000) Functional response and superparasitism by *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Annals of the Entomological Society of America*, **93**, 47–54.

Montoya, P., Cancino, J., Perez-Lachaud, G. & Liedo, P. (2011) Host size, superparasitism and sex ratio in mass-reared *Diachasmimorpha longicaudata*, a fruit fly parasitoid. *Biocontrol*, **56**, 11–17.

Pastori, P.L., Pereira, F.F., Zanuncio, J.C., Oliveira, H.N., Calado, V.F.R. & Silva, R.O. (2012) Densidade de fêmeas de *Palmistichus elaeisis* delvare & lasalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) para sua reprodução em pupas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: noctuidae). *Arquivos do Instituto Biológico*, **79**, 525–532.

Pereira, F.F., Zanuncio, J.C. Serrão, J.E. Oliveira, H.N. Kellen, F. & Grance, E.L.V. (2009) Progenie de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) parasitando pupas de *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) de diferentes idades. *Neotropical Entomology*, **38**, 660–664.

Pereira, F.F., Zanuncio, J.C., Serrão, J.E., Zanuncio, T.V., Pratisoli, D. & Pastori, P.L. (2010) The density of females of *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, **82**, 323–331.

Rodriguez, F.A.D., Valicente, F.H, Parreira, D.S, Ramalho, F.S., Serrão, J.E. & Zanuncio, J.C. (2016a) *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) reared on pupae of different insects hosts. (Capitulo 2 Biological Control)

Rodriguez, D.F.A., Costa, V.H.D., Valicente, F.H., Ramalho, F.S., Serrão, J.E. & Zanuncio, J.C. (2016b) *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae), a biological control agent of lepidopteran pests of corn in Brazil (Capitulo 1 Florida entomologist)

Rodriguez, D.F.A., Poderoso, J.C.M., Ribeiro, R.C., Brügger, B.P., Wilcken, C.F., Serrão, J.E., & Zanuncio, J.C. (2016c) *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing pupae of the passion fruit pest *Agraulis vanillae vanillae* (Lepidoptera: Nymphalidae). *Florida Entomologist*, **99**, 130–132.

Riddick, E.W. (2007) Influence of honey and maternal age on egg load of lab-cultured *Cotesia marginiventris*. *Biological Control*, **52**, 613–618.

Riddick, E.W. (2008) Sting frequency and progeny production of lab-cultured *Cotesia marginiventris*. *Biological Control*, **53**, 295–302.

Sagarra, L.A., Vicent, C. & Stewart, R.K. (2000) Mutual interference among female *Anagyrus kamali* Moursi (Hymenoptera: Encyrtidae) and its impact on fecundity, progeny production and sex ratio. *Biocontrol Science and Technology*, **10**, 239–244.

Sagarra, L.A., Vicent, C. & Stewart, R.K. (2001) Body size as an indicator of parasitoid quality in male and female *Anagyrus kamali* (Hymenoptera: Encyrtidae). *Bulletin of Entomological Research*, **91**, 363–367.

SAS, Institute. (1997) *Sas, User's guide: statistics SAS Institute*, Cary, NC.

Schmale, I., Wäckers, F.L., Cardona, C. & Dorn, S. (2005) How host larval age, and nutrition and density of the parasitoid *Dinarmus basalis* (Hymenoptera:

Pteromalidae) influence control of *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae) *Bulletin of Entomological Research*, **95**, 145–150.

Shuker, D.M., Pen, I., Duncan, A.B., Reece, S.E. & West, A.S. (2005) Sex ratios under asymmetrical local mate competition: Theory and a test with parasitoid wasps. *American Naturalist*, **166**, 301–316.

Silva–Torres, C.S.A., Filho Ramos, I.T., Torres, J.B. & Barros, R. (2009) Superparasitism and host size effects in *Oomyzus sokolowskii*, a parasitoid of diamondback moth. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **133**, 65–73.

Silva, I.M., Zanuncio, T.V., Pereira, J.M.M., Wilcken, C.F., Pereira, F.F., Serrão, J.E. & Zanuncio, J.C. (2014) Density of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) Parasitizing *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae) Pupae. *Annals of the Entomological Society of America*, **107**, 826–831.

Sousa, J.M. & Spence, J.R. (2000) Effects of mating status and parasitoid density on Superparasitism and offspring fitness in *Tiphodytes gerriphagus* (Hymenoptera: Scelionidae). *Annals of the Entomological Society of America*, **93**, 548–553.

Strand, M.R. (2008) The insect cellular immune response. *Insect Science*, **15**, 1–14.

Tang, B., Xu, L. & Hou, Y. (2014) Effects of rearing conditions on the parasitism of *Tetrastichus brontispae* on its pupal host *Octodonta nipae*. *Biocontrol*, **59**, 647–657.

Tavares, W.S., Hansson, C., Serrão, J.E. & Zanuncio, J.C. (2012a) Emergence of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) from pupae of *Thagona tibialis* (Lepidoptera: Lymantriidae) collected in the medicinal plant *Terminalia catappa* (Combretaceae). *Entomological News*, **122**, 250–256.

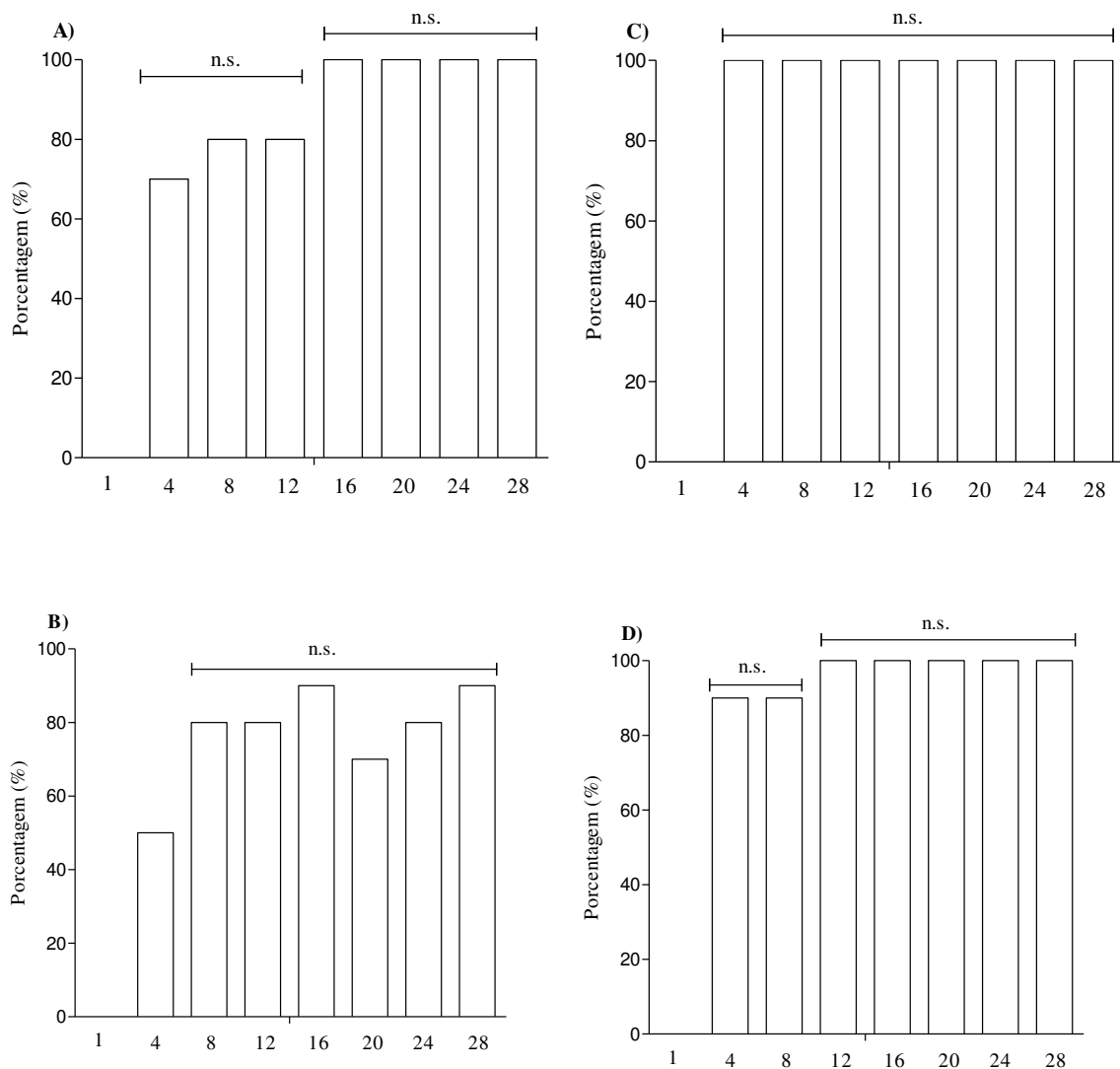
Tavares, W.S., Mielke, O.H.H., Wilcken, C.F., Simon, L., Serrão, J. E. & Zanuncio, J.C. (2012b) *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing pupae of *Citioica anthonilis* (Lepidoptera: Saturniidae) collected on *Piptadenia gonoacantha* (Fabaceae). *Journal of the Lepidopterists' Society*, **66**, 216–220.

Tavares, W.S., Soares, M.A., Mielke, O.H.H., Poderoso, J.C.M., Serrão, J.E. & Zanuncio, J.C. (2013) Emergence of *Palmistichus elaeisis* (Delvare & LaSalle, 1993) (Hymenoptera: Eulophidae) from pupae of *Heracles anchisiades capys* (Hübner, 1809) (Lepidoptera: Papilionidae) in the laboratory. *Folia Biologica-Krakow*, **61**, 233–237.

Ueno, T. (1999) Host–size–dependent sex ratio in a parasitoid wasp. *Researches on Population Ecology*, **41**, 47–57.

Vacari, A.M., De Bortoli, S.A., Borba, D.F. & Martins, M.I.E.G. (2012) Quality of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) reared at different host densities and the estimated cost of its commercial production. *Biological Control*, **63**, 102–106.

Zanuncio, J.C., Pereira, F.F., Jacques, G.C., Tavares, M.T. & Serrão, J.E. (2008) *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae), a new alternative host to rear the pupae parasitoid *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae). *Coleopterists Bulletin*, **62**, 64–66.



Densidade de fêmeas de *Palmistichus elaeisis*.

Figura. 1. Parasitismo e emergência de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) com 1, 4, 8, 12, 16, 20, 24, e 28 fêmeas por pupa de *Helicoverpa armigera* (A), (B) e de *Helicoverpa zea* (C), (D) (Lepidoptera: Noctuidae) respectivamente. Barras seguidas de mesma linha não diferem pelo teste não parâmetro de Kruskal–Wallis ($P < 0.05$).

Tabela 1. Progenie por pupa (Prog.), razão sexual (Rs.), ciclo de vida, longevidade de fêmeas (Long. fêmeas), longevidade de machos (Long. machos) (media \pm erro padrão) de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) com diferentes densidades (Dens.) por pupa de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae)

Dens.	Prog.	Rs.	Ciclo de vida	Long fêmeas	Long macho
1:1	0 B	0 B	0 B	0 E	0 D
4:1	44,20 \pm 21,61 B	0,92 \pm 0,02 A	26,2 \pm 0,85 A	20,23 \pm 0,30 A	19,93 \pm 0,33 A
8:1	109,12 \pm 36,30 A	0,88 \pm 0,05 A	26,13 \pm 0,49 A	19,13 \pm 0,49 AB	18,80 \pm 0,77 AB
12:1	120,75 \pm 32,93 A	0,92 \pm 0,02 A	26,88 \pm 0,49 A	18,43 \pm 0,40 B	16,73 \pm 0,42 BC
16:1	191,40 \pm 19,59 A	0,97 \pm 0,01 A	24,6 \pm 0,16 A	18,17 \pm 0,38 B	16,93 \pm 0,91 BC
20:1	128,80 \pm 34,00 A	0,96 \pm 0,01 A	25,14 \pm 1,11 A	17,43 \pm 0,50 BC	16,60 \pm 0,91 BC
24:1	112,90 \pm 11,99 A	0,98 \pm 0,01 A	25,25 \pm 1,06 A	16,17 \pm 0,53 CD	16,20 \pm 0,63 BC
28:1	135,20 \pm 30,78 A	0,91 \pm 0,02 A	25,88 \pm 0,19 A	15,63 \pm 0,31 D	14,87 \pm 0,66 C

*Medias seguidas de mesma letra por coluna não diferem pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Tabela 2. Comprimento do corpo de fêmeas (Com. fêmeas), comprimento do corpo de machos (Com. machos), largura da capsula cefálica de fêmea (Larg. fêmeas), largura da capsula cefálica de machos (Larg. machos), (media \pm erro padrão) com diferentes densidades (Dens.) de fêmeas de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) por pupas de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae)

Dens.	Com. Fêmeas	Com. machos	Larg. fêmeas	Larg. machos
1	0 F	0 D	0 F	0 D
4	2,07 \pm 0,02 A	1,38 \pm 0,02 A	0,69 \pm 0,01 A	0,36 \pm 0,01 A
8	1,99 \pm 0,03 AB	1,14 \pm 0,04 B	0,64 \pm 0,01 B	0,31 \pm 0,01 B
12	1,84 \pm 0,03 CD	1,10 \pm 0,05 B	0,49 \pm 0,01 C	0,29 \pm 0,01 BC
16	1,89 \pm 0,04 BC	1,19 \pm 0,03 B	0,50 \pm 0,01 C	0,30 \pm 0,01 B
20	1,73 \pm 0,04 DE	0,97 \pm 0,03 C	0,44 \pm 0,01 E	0,19 \pm 0,01 C
24	1,70 \pm 0,04 E	1,13 \pm 0,03 C	0,49 \pm 0,01 CD	0,24 \pm 0,02 B
28	1,71 \pm 0,04 DE	1,10 \pm 0,03 B	0,44 \pm 0,01 DE	0,29 \pm 0,01 BC

*Medias seguidas de mesma letra por coluna não diferem pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Tabela 3. Progenie por pupa (Prog.), razão sexual (Rs.), ciclo de vida, longevidade de fêmeas (Long. fêmeas), longevidade de machos (Long. machos) (media \pm erro padrão) com diferentes densidades (Dens.) de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) por pupa de *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae)

Dens.	Prog.	Rs.	Ciclo de vida	Long fêmeas	Long macho
1:1	0 C	0 B	0 B	0 F	0 E
4:1	134,33 \pm 24,15 AB	0,98 \pm 0,005 A	24,33 \pm 0,63 A	20,23 \pm 0,25 A	20,67 \pm 0,52 A
8:1	197,78 \pm 30,82 AB	0,97 \pm 0,007 A	24,78 \pm 0,67 A	19,67 \pm 0,34 B	19,80 \pm 0,52 AB
12:1	236,23 \pm 28,43 A	0,98 \pm 0,004 A	24,70 \pm 0,82 A	18,97 \pm 0,39 BC	17,60 \pm 0,42 C
16:1	244,70 \pm 36,40 A	0,97 \pm 0,005 A	22,30 \pm 0,44 A	19,37 \pm 0,42 BC	18,67 \pm 0,42 BC
20:1	223,90 \pm 35,58 AB	0,96 \pm 0,010 A	24,90 \pm 0,28 A	18,07 \pm 0,30 CD	17,53 \pm 0,42 C
24:1	196,30 \pm 35,20 AB	0,97 \pm 0,008 A	24,80 \pm 0,29 A	17,10 \pm 0,40 DE	15,67 \pm 0,48 D
28:1	105,40 \pm 16,86 AB	0,97 \pm 0,008 A	24,60 \pm 0,48 A	16,23 \pm 0,35 E	15,00 \pm 0,28 D

*Medias seguidas de mesma letra por coluna não diferem pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Tabela 4, Comprimento do corpo de fêmeas (Com. fêmeas), comprimento do corpo de machos (Com. machos), largura da capsula cefálica de fêmea (Larg. fêmeas), largura da capsula cefálica de machos (Larg. machos), (media \pm erro padrão) com diferentes densidades (Dens.) de fêmeas de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) por pupa de *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae)

Dens.	Com. fêmeas	Com. Machos	Larg. fêmeas	Larg. machos
1:1	0 D	0 E	0 D	0 C
4:1	2,12 \pm 0,03 A	1,35 \pm 0,03 A	0,53 \pm 0,01 A	0,35 \pm 0,02 A
8:1	2,09 \pm 0,03 A	1,26 \pm 0,03 AB	0,51 \pm 0,01 A	0,32 \pm 0,01 A
12:1	1,84 \pm 0,05 B	1,15 \pm 0,04 BC	0,45 \pm 0,01 B	0,26 \pm 0,02 B
16:1	1,67 \pm 0,05 BC	1,14 \pm 0,03 BC	0,44 \pm 0,01 BC	0,26 \pm 0,02 B
20:1	1,66 \pm 0,04 BC	1,12 \pm 0,03 BCD	0,41 \pm 0,01 BC	0,24 \pm 0,01 B
24:1	1,53 \pm 0,05 C	1,01 \pm 0,04 CD	0,40 \pm 0,01 C	0,21 \pm 0,01 B
28:1	1,56 \pm 0,07 C	0,99 \pm 0,04 D	0,42 \pm 0,01 BC	0,22 \pm 0,01 B

*Medias seguidas de mesma letra por coluna não diferem pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

4, CONCLUSÕES GERAIS

- A porcentagem de parasitismo, emergência, ciclo de vida e número de descendentes de *P. elaeisis* em por pupa dos hospedeiros *H. armigera*, *H. zea*, e *S. cosmioides*, demonstram o potencial para controle destes insetos pragas. Foi apresentado o primeiro registro de parasitismo de *P. elaeisis* nestas pragas do milho.
- As fêmeas de *P. elaeisis* apresentam boa aceitação e adaptação dos hospedeiros *H. armigera* e *H. zea*, com incremento no fitness (tamanho do corpo, razão sexual, e número de progênie) nos hospedeiros de maior tamanho *H. armigera* e *H. zea* e estes insetos pragas podem ser alternativas para a criação massal do parasitoide.
- *Palmistichus elaeisis* apresentou superparasitismo com o aumento da densidade de suas fêmeas por pupa dos hospedeiros *H. armigera* e *H. zea*, o aumento da densidade diminuí a longevidade, o tamanho da capsula cefálica e o comprimento do corpo dos adultos desse parasitoide. Quatro fêmeas de *P. elaeisis* podem ser suficientes para obter parasitismo em pupas de *H. armigera* e *H. zea*. A porcentagem de parasitismo, emergência, razão sexual, longevidade, ciclo de vida e tamanho dos adultos demonstram que as densidades de 12 a 20 fêmeas são adequadas para a criação massal desse parasitoide em pupas de *H. armigera* e *H. zea*.