

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS

Victor José Bon

**Efeito da interação de *Trissolcus basalis* e *Telenomus podisi* (Hymenoptera:
Scelionidae) na efetividade do controle biológico de *Euschistus heros*
(Hemiptera: Pentatomidae)**

São Carlos – SP
2021

Victor José Bon

Efeito da interação de *Trissolcus basalis* e *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae) na efetividade do controle biológico de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae)

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais junto ao Programa de Pós Graduação em Ecologia e Recursos Naturais.

Orientadora: Profa. Dra. Carolina Reigada Montoya

**São Carlos – SP
2021**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato Victor José Bon, realizada em 07/07/2021.

Comissão Julgadora:

Profa. Dra. Carolina Reigada Montoya (UFSCar)

Prof. Dr. João Ânderson Fulan (UFSCar)

Prof. Dr. Alexandre José Ferreira Diniz (USP)

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço aos meus pais Aylton e Vera, e ao meu irmão Douglas, por terem sido a minha base e estrutura para o desenvolvimento e realização desse projeto.

À professora Dr^a. Carolina Reigada Montoya por toda orientação, dedicação e ensinamento ao longo do trabalho.

Ao Prof. Dr. Rafael Moral pela ajuda com o desenvolvimento das análises estatísticas.

À CAPES pelo financiamento e suporte necessário ao longo do desenvolvimento de todo o projeto.

Ao São Paulo Advanced Research Center for Biological Control (SPARCBio-Fapesp) pelo fomento vinculado ao laboratório.

À UFSCar, ao Centro de Ciências Biológicas e da Saúde e ao Programa de Pós-Graduação de Ecologia e Recursos Naturais, por proporcionarem toda a base, desenvolvimento pessoal e conhecimento científico ao longo de minha jornada.

Ao Laboratório de Ecologia de Interações, do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva (UFSCar) por disponibilizar toda a estrutura para a realização da pesquisa e trabalho.

Ao Laboratório de Biologia dos insetos, do Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ, por disponibilizarem as colônias de insetos para o cultivo e realização dos experimentos.

Aos professores da banca de qualificação e de defesa, Prof. Dr^a. Angelica Penteadó, Prof. Dr^a. Odete Rocha, Prof. Dr. Alexandre Diniz e Prof. Dr. João Fulan, pelos conselhos e orientações.

A todos os técnicos, professores e funcionários do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva.

A todos os amigos de forma geral, e colegas mestrandos e doutorandos do programa que contribuíram de maneira direta ou indireta ao longo de todo o caminho.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Fig. 1. Adulto de *Euschistus heros*.

Fig. 2. Ciclo de desenvolvimento do percevejo marrom – *Euschistus heros*.

Fig. 3. Bases e pilares do MIP (Manejo Integrado de Pragas).

Fig. 4. Ciclo de vida do parasitoide *Trissolcus basal* e aspecto dos ovos parasitados em diferentes fases do desenvolvimento embrionário.

Fig. 5. *Telenomus podisi* marcando, com o ovipositor o ovo de *Euschistus heros* após parasitismo.

Fig. 6. Gaiolas de criação de *Euschistus heros* com a dieta disponibilizada aos insetos.

Fig. 7. **a)** Placa de Petri com posturas de ovos recentes de *Euschistus heros*; **b)** parasitoide *Trissolcus basal*; **c)** Saco de polietileno com posturas de ovos recentes de *E. heros* disponibilizadas para parasitismo de *Trissolcus basal* e *Telenomus podisi*.

Fig. 8. Arenas experimentais representadas por tubos de ensaios fechados com plástico filme.

Fig. 9. Cenários experimentais para a quantificação dos efeitos da competição intra: (a) TB vs TB; (b) TP vs TP e interespecífica (c) TB vs TP durante o forrageio e parasitismo de fêmeas parasitoides por ovos de *Euschistus heros*.

Fig. 10. Classificação dos ovos de *Euschistus heros* após período de tempo necessário para o desenvolvimento e emergência da prole dos parasitoides; **a:** ovos parasitados; **b:** ovos inférteis; **c:** ovos malogrados.

Fig.11. Porcentagem de ovos parasitados viáveis, ovos parasitados inviáveis, ovos com eclosão de ninfas de *E. heros* e ovos malogrados ao final do parasitismo nos cenários experimentais para competição intraespecífica (TB vs TB, TP vs TP), competição interespecífica (TB vs TP) e grupo controle.

Fig.12. Padrão de emergência (probabilidade cumulativa) da prole de *Trissolcus basal* e *Telenomus podisi* em função do tempo (dias), para os cenários de competição intraespecífica: *T. basal* (TB vs TB- linha sólida) e *T. podisi* (TP vs TP- linha tracejada) e competição interespecífica *T. basal* × *T. podisi* (TB vs TB – linha pontilhada).

Fig. 13. Padrão de emergência (probabilidade cumulativa) da prole em função do tempo (dias) para os cenários de competição interespecífica: entre as espécies *Trissolcus basal* (TB - linha sólida) e *Telenomus podisi* (TP linha pontilhada).

Fig. 14. Cenários experimentais para a quantificação do sucesso do parasitismo na presença de ovos de percevejo parasitados por *Trissolcus basal*; por *Telenomus podisi* e não parasitados na ausência de competição. (a) TB; (b) TP e na presença de competidor interespecífica (c) TB vs TP.

Fig. 15. Esquema usado para a classificação de comportamentos exibidos por parasitoides durante o parasitismo (Adaptado Bin et al 1993) e fotos de *Telenomus podisi* exibindo diferentes comportamentos descritos: b) tamborilar/colocar o ovipositor para fora; c) ovipositar; d) marcar o ovo (sinalização química).

Fig. 16. Proporção do sucesso reprodutivo (emergência da prole) de cada espécie parasitoide, da mortalidade de parasitoides (ovos parasitados sem emergência de parasitoides) e de ovos não parasitados nos cenários experimentais TP, Controle (somente parasitismo primário), TP e TB vs TP.

Fig. 17. Proporção do sucesso reprodutivo (emergência de prole) de cada espécie parasitoide, da mortalidade (ovos parasitados sem emergência de parasitoides) e de ovos sem parasitismo nos cenários TP, TB e TB vs TP considerando apenas em ovos sadios (*i.e.* sem parasitismo prévio).

Fig. 18. Padrão de emergência (probabilidade cumulativa) de prole dos grupos de ovos contendo TB: parasitismo prévio por *Trissolcus basal*; TP: parasitismo prévio por *Telenomus podisi*; Nenhum: Ovos sadios; das espécies parasitoides em função do tempo (dias) nos diferentes cenários: TB- quando apenas a fêmea da espécie *T. basal* estava presente ; TB vs TP- quando as fêmeas das espécies *T.basal* e *T. podisi* estavam presentes simultaneamente e;

TP- quando apenas a fêmea da espécie *T. podisi* estava presente na arena experimental; Controle – quando apenas ocorreu o parasitismo prévio, sem acréscimo de fêmeas das espécies.

Fig. 19. Padrão de emergência (probabilidade cumulada) da prole emergente de ovos sadios das espécies *Trissolcus basalis* (TB) e *Telenomus podisi* (TP) em função do tempo (foram considerados todos os tratamentos TB, TP e TB vs TP).

Fig. 20. a) Tempo por comportamento total em cada atividade comportamental (segundos) **b)** Frequência total das atividades comportamentais: caminhar; marcar; ovipositar; tamborilar (TB = *Trissolcus basalis*; TP = *Telenomus podisi*).

Fig. 21. Intensidade das frequências comportamentais de *Telenomus podisi* e *Trissolcus basalis* em cada grupo de ovos. **TB)** sadio_TB: *T. basalis* em ovos sadios; TB_TB: *T. basalis* em ovos previamente parasitados pela própria espécie; TP_TB: *T. basalis* em ovos previamente parasitados por *T. podisi*. **TP)** sadio_TP: *T. podisi* em ovos sadios; TP_TP: *T. podisi* em ovos previamente parasitados pela própria espécie; TB_TP: *T. podisi* em ovos previamente parasitados por *T. basalis*.

LISTA DE TABELAS

Tab.1. Porcentagem das taxas de parasitismo e viabilidade dos cenários (TB vs TB, TP vs TP) e competição interespecífica (TB vs TP).

Tab.2. Porcentagem da viabilidade nos cenários de competição conspecífica (TB vs TB, TP vs TP) e no cenário de competição interespecífica (TB vs TP).

Tab.3. Média (\pm desvio padrão) e porcentagem de emergência de *Trissolcus basalis*; *Telenomus podisi*, parasitismo inviável e ovos não parasitados ao final do parasitismo em cada grupo de ovos (tb: ovos com parasitismo prévio de *T. basalis*; tp: ovos com parasitismo prévio de *T. podisi*; np: ovos sadios) nos cenários experimentais TB, TP, TB vs TP e Controle (sem a presença de fêmeas parasitoides).

Tab.4. Média (\pm desvio padrão) da frequência dos tipos de comportamento: tamborilar, ovipositar, marcar, das fêmeas de *T. basalis* e *Telenomus podisi* dentro de cada grupo de ovos (TP, TB e sadio) no parasitismo sequencial ao longo de 35 minutos de observação. **TB** TB×sadio: *T. basalis* em ovos sadios; TB×TB: *T. basalis* em ovos previamente parasitados pela própria espécie; TB×TP: *T. basalis* em ovos previamente parasitados por *T. podisi*) **TP** TP×sadio: *T. podisi* em ovos sadios; TP×TP: *T. podisi* em ovos previamente parasitados pela própria espécie; TP×TB: *T. podisi* em ovos previamente parasitados por *T. basalis*.

Tab.5. Média (\pm desvio padrão) das frequências de comportamentos de oviposição do parasitismo secundário em cenários que continham *Trissolcus basalis* (**TB**) e *Telenomus podisi* (**TP**) nos diferentes grupos de ovos (sadios: frequências de oviposições no grupo de ovos sadios; TB parasit: frequências de oviposições no grupo previamente parasitados por *Trissolcus basalis*; TP parasit: frequências de oviposições no grupo previamente parasitados por *Telenomus podisi*)

RESUMO

Telenomus podisi e *Trissolcus basal* são duas importantes espécies parasitoides usadas como agentes de controle biológico do percevejo marrom da soja, *Euschistus heros*. Apesar da eficiência destes agentes no controle da praga, a presença de ambas espécies parasitoides no campo e a maneira como interagem entre si na busca por seus hospedeiros pode impactar de diferentes formas a efetividade do controle biológico. Este estudo teve como objetivo analisar os efeitos advindos da complexidade de interações que podem surgir quando as duas espécies parasitoides interagem de maneira direta ou indireta durante o forrageio por ovos de *E. heros*. Dessa forma, através de cenários experimentais, os efeitos da competição intra e interespecífica foram avaliados em dois momentos: (i) durante a exploração simultânea de parasitoides, ou seja, quando as fêmeas parasitoides competem diretamente entre si por ovos de hospedeiros que ainda não foram parasitados e (ii) durante a exploração sequencial de parasitoides, quando as fêmeas têm disponíveis para o parasitismo uma parcela de ovos que já foram parasitados previamente, resultando em competição entre a prole dos parasitoides no interior dos ovos dos hospedeiros. Neste último cenário, o comportamento das fêmeas foi observado por 35 minutos, o que permitiu avaliar a frequência de oviposições em ovos previamente parasitados. O efeito das diferentes interações entre parasitoides sobre as taxas de parasitismo, viabilidade e padrões de emergência da prole foram avaliados. Na exploração simultânea de parasitoides, as maiores taxas de parasitismo e viabilidade da prole se deu quando *T. podisi* foi a única espécie parasitoide presente. Na presença de *T. basal*, as taxas de parasitismo se mantiveram altas somente quando *T. podisi* também estava presente, embora as taxas de emergência tenha sofrido considerável redução devido a ocorrência do multiparasitismo. Na exploração sequencial, *T. podisi* também apresentou maiores taxas de parasitismo e emergência de prole devido a maior capacidade para discriminar ovos previamente parasitados por conspecíficos. Neste cenário, a prole advinda do parasitismo prévio teve maior sucesso comparada à prole advinda do parasitismo sequencial. As interações competitivas no interior do ovo do hospedeiro, entretanto, resultaram no aumento das taxas de mortalidade e alterações no período de emergência da prole. O tipo de interação competitiva presente na população de parasitoides e o tempo no qual ocorrem (simultaneamente ou em sequência) pode ter impacto direto na efetividade do controle da praga a curto e a longo prazo.

Palavras-chave: *Telenomus podisi*; *Trissolcus basal*; padrão de emergência, competição por hospedeiro; multiparasitismo

ABSTRACT

Telenomus podisi and *Trissolcus basalus* are two important parasitoids used as biological control agents for the brown soybug, *Euschistus heros*. The interaction between these parasitoid species at the field, however, can result in different effectiveness of pest control, depending on the density of the species present and the conditions in which the species find their hosts at the field. This study aimed to analyze the effects of the complexity of interactions that can arise when two parasitoid species interact directly or indirectly during the foraging by *E. heros* eggs. Through experimental scenarios, the effects of intra and interspecific competition were evaluated in two moments: (i) during simultaneous exploration of parasitoids, that is, when female parasitoids compete directly for non-parasitized eggs and (ii) during sequential exploration of parasitoids, when females have found some already parasitized eggs among the available host's eggs, resulting in offspring competition inside of host egg. In this scenario, female's behavior was observed for 35 minutes, allowing to evaluate the frequency of ovipositions in parasitized eggs. The effects of different type and time of competition interactions between parasitoids on the parasitism rates, viability and emergence patterns of the offspring were evaluated. For simultaneous exploration of parasitoids, the best scenario for control with high rates of emergence rates occurred when *T. podisi* was the only parasitoid species present in the system. In the presence of *T. basalus*, the rates of parasitism remained high only when *T. podisi* was also present, although the emergence rates has been considerably reduced due to multiparasitism. In sequential exploration of parasitoids, *T. podisi* showed higher rates of parasitism and emergence of offspring due to the greater ability to discriminate eggs previously parasitized by conspecifics. In this scenario, the offspring of the previous parasitism were more successful, however, the competitive interactions inside of eggs led to changes in the patterns of the emergence of the species, as well as the high mortality of the offspring. The type of competition present in parasitoid populations and the time in which it occurs (simultaneous or sequentially) can have direct impact on the effectiveness of short and long-term pest control.

Keywords: *Telenomus podisi*; *Trissolcus basalus*; emergence pattern, competition for host; multiparasitism.

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO GERAL..... | 11 |
| 2 Justificativa | 13 |
| 3 Hipóteses..... | 14 |
| 4 Objetivos | 15 |
| 4.1 Capítulo 1..... | 15 |
| 4.2 Capítulo 2..... | 15 |
| 5 Revisão bibliográfica | 15 |
| REFERÊNCIAS..... | 25 |
| CAPÍTULO 1 – Exploração simultânea de parasitoides: Efeitos da competição intra e interespecífica entre fêmeas de <i>Telenomus podisi</i> e <i>Trissolcus basalis</i> por ovos de <i>Euschistus heros</i>..... | 34 |
| Resumo..... | 34 |
| Abstract..... | 35 |
| 1 Introdução | 36 |
| 2 Materiais e Métodos..... | 38 |
| 2.1 Espécies estudadas | 38 |
| 2.1.1 Hospedeiro: <i>Euschistus heros</i> | 38 |
| 2.1.2 Parasitoides: <i>Telenomus podisi</i> e <i>Trissolcus basalis</i> | 39 |
| 2.2 Delineamento experimental | 40 |
| 2.2.1 Padrão de emergência | 42 |
| 2.3 Análise estatística..... | 43 |
| 3 Resultados | 43 |
| 3.1 Padrão de Emergência..... | 46 |
| 4 Discussão. | 48 |
| REFERÊNCIAS..... | 50 |
| CAPÍTULO 2 – Exploração sequencial de parasitoides: Efeitos da competição intra e interespecífica entre <i>Telenomus podisi</i> e <i>Trissolcus basalis</i> em ovos de <i>Euschistus heros</i>..... | 56 |
| Resumo | 56 |
| Abstract..... | 57 |
| 1 Introdução | 58 |
| 2 Materiais e Métodos..... | 60 |
| 2.1 Espécies estudadas | 60 |
| 2.1.1 Hospedeiro: <i>Euschistus heros</i> | 60 |
| 2.1.2 Parasitoides: <i>Telenomus podisi</i> e <i>Trissolcus basalis</i> | 61 |
| 2.2 Delineamento experimental | 61 |

| | | |
|-------|---|----|
| 2.2.1 | Padrão de emergência | 63 |
| 2.2.2 | Avaliação e quantificação do comportamento de oviposição das fêmeas parasitoides durante o parasitismo sequencial | 63 |
| 2.3 | Análise estatística | 64 |
| 3 | Resultados | 65 |
| 3.1 | Padrão de Emergência | 69 |
| 3.2 | Avaliação e quantificação do comportamento de oviposição das fêmeas parasitoides durante o parasitismo sequencial | 73 |
| 4 | Discussão. | 77 |
| | REFERÊNCIAS..... | 81 |
| | Conclusões Gerais | 87 |

1 INTRODUÇÃO GERAL

As interações entre plantas, insetos fitófagos e inimigos naturais passam por constantes modificações e adaptações nos agroecossistemas ao longo do tempo. A soja e a comunidade de insetos associados a esta cultura é um exemplo de agrossistema que passa por este processo, devido a modificações das paisagens agrícolas resultante da sazonalidade, rotação de culturas e também pelas consequências advindas de alterações climáticas (Godfray, 1994; McLaughlin et al., 2002; Hance et al., 2007; Assad et al., 2008).

Muito se tem discutido sobre o papel das mudanças climáticas e das modificações da paisagem sobre o estabelecimento e ocorrência de interações entre planta, inseto fitófago e inimigos naturais (Godfray, 1994; McLaughlin et al., 2002). Ambos os fatores podem afetar a biologia das espécies de insetos que interagem em uma comunidade, alterando a dinâmica e levando parte da comunidade a extinção (McLaughlin et al., 2002; Putten et al., 2004), interferindo diretamente da produção agrícola e na diversidade das espécies (Körner, 2000, 2003; Theurillat e Guisan, 2001). Essas alterações tendem a ser mais relevante nos níveis tróficos superiores, pois são dependentes dos níveis tróficos inferiores para se adaptarem a essas mudanças. Portanto, parasitoides e predadores são organismos que podem sofrer graves efeitos, visto que representam o terceiro nível trófico (Hance et al., 2007).

Além do conjunto de fatores ecológicos e agroclimáticos associados, a distribuição e a frequência das pragas também são influenciadas por mudanças nos padrões de cultivo ao longo do tempo (Assad et al., 2008), as quais alteram as paisagens agrícolas através de técnicas adotadas, tais como a rotação de culturas, manejo e aplicação de técnicas para aumentar a produtividade agrícola e o controle das pragas.

Estima-se que cerca de 10% das espécies de insetos descritas podem ser considerados pragas e provocar redução da produtividade das espécies de plantas cultivadas pelo ser humano (Cramer, 1967; Pimentel, 1976; Metcalf, 1996). No Brasil, estudos apontaram perdas anuais de produção causadas por insetos, em média, de 7,1% no início da década de 2000 (Sugayama et al., 2015). Estas perdas geram um prejuízo anual de cerca de 17,7 bilhões de dólares à economia quando se considera a quantidade de produção de fibras, alimentos e biocombustível que o país deixa de produzir (Oliveira et al., 2014).

A soja pertence à família Leguminosae, subfamília Papilionoidae, gênero *Glycyne*, L. A forma cultivada *Glycine max* (L.) Merrill, desenvolve-se anualmente muito importante para a economia mundial. Ela é atualmente produzida em todas as regiões brasileiras, com maior

concentração no Centro-Oeste, desempenhando importante papel nas exportações do mercado brasileiro, o que torna esta cultura uma *commodity* agrícola de grande importância (Borlachenco e Gonçalves, 2017; Embrapa, 2018). No Brasil, a produção de soja alcançou recorde de 124,8 milhões de toneladas na safra 2019/2020 (Conab, 2020).

Dentre os insetos que prejudicam e causam danos na produção de soja, os percevejos fitófagos (Hemiptera: Pentanomidae) destacam-se como o mais relevante grupo de pragas. O percevejo marrom – *Euschistus heros* (Fabricius, 1798), o percevejo verde pequeno – *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) e o percevejo verde – *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758) compõem o complexo de percevejos da soja de maior importância econômica (Slansky Junior, 1985; Hoffmann-Campo et al., 2000; Panizzi et al., 2000). Grandes mudanças na abundância e distribuição dessas espécies têm sido observadas nas diversas regiões que produzem o grão oleaginoso no país. A espécie *N. viridula* ocorre de forma frequente e em níveis populacionais maiores na região Sul do Brasil. Em contrapartida, *E. heros* tem sido mais abundante e frequente em regiões produtoras de soja com clima predominantemente mais quente, desde o norte e o oeste do Estado do Paraná até o Brasil Central e norte do país. *P. guildinii* é encontrado de forma abundante no território que vai desde os estados mais frios, como o Rio Grande do Sul, até regiões mais quentes como o estado do Piauí (Galileo et al., 1977; Panizzi e Slansky Junior, 1985; Gazzoni et al., 1988). Aparentemente, os diversos tipos de clima presentes nessas regiões produtoras parecem ser encarregados por grande parte das variações vistas entre as populações das referidas espécies (Cividanes e Parra, 1994a) e por isso é esperado que o aumento da temperatura tenha efeito significativo sobre a distribuição e ocorrência desses insetos nas culturas de oleaginosas em todo o mundo.

A espécie *E. heros* era relativamente rara até a década de 1970. Porém, nas décadas seguintes, a espécie deixou o status de praga-secundária e assumiu a posição de praga-chave da soja, sendo considerada uma das principais e mais abundantes pragas da cultura no Brasil, intensificando-se nas regiões mais quentes, do norte do Estado do Paraná ao Centro-Oeste brasileiro (Panizzi e Slansky, 1985; Cividanes e Parra, 1994a). A mudança de “status” da praga é atribuída a vários fatores, sendo que o aumento das temperaturas médias mundiais nas regiões produtoras da soja é considerado como um dos mais importantes.

Nos agroecossistemas de soja, o controle dessas pragas é realizado através MIP (Manejo Integrado de Pragas), um conjunto de métodos e ferramentas variadas, utilizadas para manter a população das pragas abaixo do nível econômico de danos que elas podem gerar para a cultura.

Entre os pilares do MIP, o controle biológico, mediante o uso de inimigos naturais, possui uma importante função para a redução dessas pragas. Esse modelo de controle de pragas é realizado por meio da ação de predadores, parasitoides ou entomopatógenos que já estavam ou que foram alocados no agroecossistema com o propósito de reduzir de forma natural a população de pragas do ambiente (Bueno et al., 2012; Embrapa, 2020).

Dentre os inimigos naturais dos percevejos da soja, os parasitoides de ovos são os mais utilizados, por impedir a eclosão das ninfas da praga e assim evitar danos às lavouras. Cerca de vinte espécies de microhimenópteros tem sido relatadas como potenciais agentes de controle biológico, sendo *Trissolcus basal* (Wollaston) e *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae) os mais importantes. A maioria desses parasitoides atacam ovos de diversos percevejos e algumas espécies mostram certa preferência, como é o caso de *T. podisi*, em relação a ovos de *E. heros* e de *T. basal* em relação a ovos de *N. viridula* (Corrêa-Ferreira e Panizzi, 1999).

A distribuição geográfica dos parasitoides de ovos dos gêneros *Trissolcus* e *Telenomus* inclui tanto áreas tropicais quanto temperadas, favorecendo a existência de espécies ou linhagens de uma mesma espécie adaptadas a condições climáticas diversas (Powell e Shepard, 1982; Corrêa-Ferreira e Zamataro, 1989).

Conforme citado acima, a alteração no clima, a expansão e o tipo de manejo adotado no cultivo de soja em diversas regiões do Brasil têm influenciado a dinâmica populacional dos percevejos pragas, onde se tem observado a redução de populações de *N. viridula* e o aumento da abundância e distribuição de *E. heros*, a qual se tornou a praga chave na cultura de soja nos dias atuais. Consequentemente, espera-se que a comunidade de parasitoides associadas a esta espécie também seja influenciada pelos novos padrões de distribuição das espécies de percevejo.

2 Justificativa

A atual distribuição geográfica e abundância do *E. heros* no Brasil em decorrência do clima e extensão das áreas de cultivo de soja pode provocar mudanças na estrutura da comunidade dos inimigos naturais associados. Estudos tem demonstrado que *T. podisi* é a principal espécie parasitoide associada a *E. heros*, e pode ser responsável por cerca de 30 a 70% do parasitismo em campo (Corrêa-Ferreira, 1993). A redução da distribuição de *N. viridula* e a entrada de *E. heros* nestas áreas tem consequências diretas sobre as populações de

T. basalis, que passaram a ter número reduzido de seus hospedeiros principais, *N. viridula* e o aumento de hospedeiros alternativos, *E. heros*. As mudanças na extensão territoriais do percevejo também possibilitaram maior frequência nas interações entre as duas espécies parasitoides, seja através da ocorrência de populações naturais ou por liberações recorrentes devido ao uso de ambas as espécies em programas de controle biológico de *E. heros*. Dada os diferentes históricos de interação das espécies parasitoides com o percevejo, espera-se que a força de interação hospedeiro-parasitoide seja diferente para cada espécie parasitoide. Conhecer as consequências advindas da adição de complexidade de interações em sistemas hospedeiro-parasitoide, ou seja, o potencial de regulação populacional de cada parasitoide separadamente e simultaneamente, quando estas competem pelo mesmo hospedeiro, permitirá o desenvolvimento e a otimização de novas estratégias para o manejo integrado desta praga, bem como avaliar a eficácia do controle biológico quando aplicado em áreas nas quais diferentes espécies de inimigos naturais estão presentes.

3 Hipóteses

- As taxas de parasitismo na interação *E. heros* × *T. podisi* serão maiores quando comparadas à interação *E. heros* × *T. basalis*, uma vez que *E. heros* é hospedeiro principal de *T. podisi* e hospedeiro alternativo de *T. basalis*;
- A adição de complexidade (presença de mais uma espécie de parasitoide) na interação hospedeiro × parasitoide levará ao enfraquecimento da força de interação observada aos pares, devido aos efeitos diretos e indiretos da competição;
- Nas interações indiretas (fêmeas parasitoides adultas × ovos parasitados), as espécies serão capazes de reconhecer ovos previamente parasitados pela própria espécie e evitarão o superparasitismo (colocar seus ovos em ovos previamente parasitados por conspecíficos);
- A presença de ovos previamente parasitados pela outra espécie parasitoide poderá levar a um aumento na ocorrência de multiparasitismo em ovos de *E. heros* e, conseqüentemente, reduzir o sucesso reprodutivo das espécies parasitoides.
- A presença simultânea das espécies parasitoides (direta ou indiretamente) poderá diminuir a eficiência da regulação populacional de *E. heros* a longo prazo.

4 Objetivos

Este trabalho está dividido em dois capítulos, nos quais diferentes tipos de interações competitivas, dadas em diferentes cenários experimentais foram explorados.

4.1 Capítulo 1

Este capítulo teve como objetivo avaliar os efeitos diretos da competição intra e interespecífica entre as espécies parasitoides *T. podisi* e *T. basalis* sobre o parasitismo de ovos de *E. heros*. Para isto foram usados diferentes cenários experimentais nos quais, os efeitos da competição direta sobre as taxas de parasitismo e viabilidade da prole das espécies foram avaliados durante a exploração simultânea de parasitoides, ou seja, no confronto direto entre fêmeas das espécies durante o forrageio por ovos ainda não parasitados do percevejo.

4.2 Capítulo 2

Este capítulo teve como objetivo avaliar os efeitos indiretos da competição intra e interespecífica entre os parasitoides *T. podisi* e *T. basalis* sobre o parasitismo de ovos de *E. heros*. Foram usados diferentes cenários experimentais nos quais, os efeitos da competição indireta sobre as taxas de parasitismo das espécies e viabilidade da prole das espécies foram avaliados durante a exploração sequencial de parasitoides, ou seja, quando dentre os ovos disponíveis às fêmeas parasitoides, haviam ovos já parasitados previamente (por conspecíficos e pela outra espécie). A ocorrência de super e/ou multiparasitismo entre as espécies foi quantificada em um segundo experimento em que foram feitas observações das atividades e frequências comportamentais quando as fêmeas parasitoides estavam na arena para forrageio dos ovos.

5 Revisão bibliográfica

Principais percevejos praga da Soja

A família Pentatomidae é uma das maiores famílias dentro da ordem Hemiptera e tem, aproximadamente, 896 gêneros e 4.722 espécies, dentre as quais possuem as mais importantes espécies que causam danos às plantas cultiváveis em diversos agroecossistemas (Panizzi et al. 2000, Grazia et al. 2012). Alguns percevejos da família Pentatomidae são conhecidos como os principais problemas na soja. O percevejo-marrom, *E. heros*, o percevejo verde-pequeno, *P.*

guildini e o percevejo-verde, *N. viridula*, são as principais pragas da soja e são encontrados de forma mais abundante as áreas de cultivo da cultura em todo o país (Panizzi e Slansky Junior, 1985; Sosa-Gomez et al., 2014).

As populações de ovos e ninfas desses insetos aumentam na cultura até o final do desenvolvimento dos grãos, atingindo o pico populacional quando a soja está em maturação fisiológica. A intensidade dos prejuízos provocados por esses organismos depende da fenologia da planta e do estágio de vida da praga. Os danos ocorrem através da introdução do aparelho bucal (estilete) dos insetos nas vagens, fazendo com que as sementes e grãos atacados fiquem menores, enrugados, murchos e com coloração escura amarelada. As perdas nas culturas podem ser irreversíveis dependendo do tamanho populacional desses organismos no agroecosistema (Corrêa-Ferreira et al, 2009; Panizzi 2012).

Euschistus heros

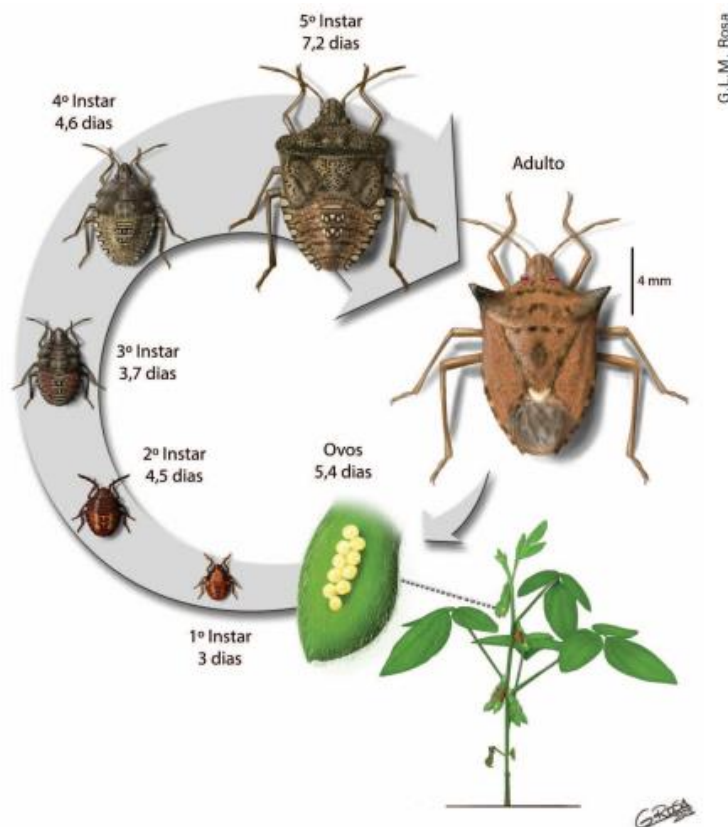
O percevejo-marrom, *E. heros* (Fig.1) é nativo da região Neotropical, sendo encontrado em toda América do Sul (Panizzi, 2004; Rolston, 198b). Através de estudos realizados, constatou-se que atualmente essa espécie é considerada a principal praga da soja, atingindo as regiões mais quentes desde o norte do Paraná até o Centro-Oeste do Brasil (Cividanes e Parra, 1994; Corrêa-Ferreira et al. 2010a; 2010b; Panizzi e Slansky Junior, 1985). O adulto de *E. heros* apresenta coloração marrom escura, com dois prolongamentos laterais do pronoto, em forma de espinhos (Fig. 1). O adulto tem longevidade média de aproximadamente 116 dias. Os conjuntos de ovos amarelados são depositados pelas fêmeas adultas diretamente nas folhas e nas vagens da planta (Villas-Bôas; Panizzi, 1980; Mourão e Panizzi, 2000).



Fonte: Autor

Figura 1 – Adulto de *Euschistus heros*

O ciclo biológico de *E. heros*, do ovo até a fase adulta, tem duração em média de 28,4 dias a 25°C, porém, a temperatura pode afetar consideravelmente o tempo de desenvolvimento desses organismos (Cividanes, 1992). O tempo de desenvolvimento dos ovos, de cada estágio de ninfas até chegar na fase adulta é representado na figura 2.



Fonte: Cividanes (1992)

Figura 2: Ciclo de desenvolvimento do percevejo marrom - *Euschistus heros*

Controle das pragas nos Agroecossistemas de Soja

Controle Químico

Na agricultura brasileira e mundial, a ferramenta mais utilizada no controle de pragas é a aplicação de produtos químicos, com atividade inseticida, fungicida, bactericida, herbicida entre outros, a fim de reduzir a população-alvo e proteger a produtividade (Silva e Batista, 2015).

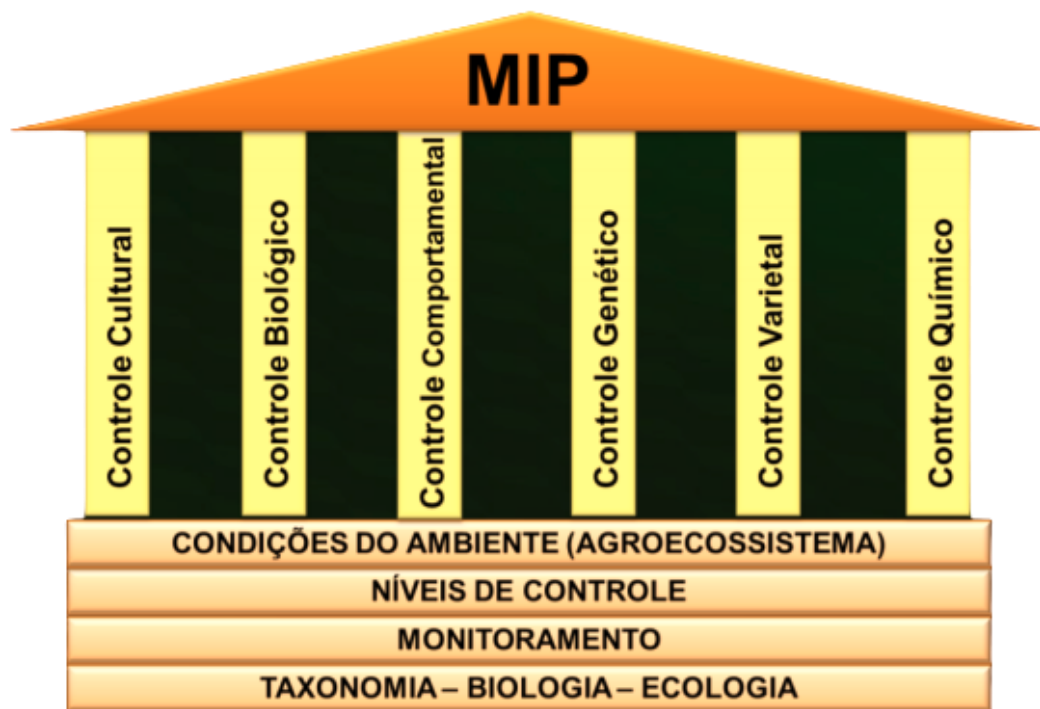
Em relação a soja no Brasil, o controle químico também é a técnica mais utilizada para prevenir e controlar as populações destes insetos praga nas culturas (Corrêa-Ferreira et al., 2009; Panizzi, 2013; Bueno et al., 2013; Bortolotto et al., 2015). Entretanto quando a sua utilização é feita de forma inadequada e de maneira abusiva em relação às recomendações

técnicas, pode ocorrer a eliminação dos inimigos naturais presentes na área cultivada e também resultar em efeitos negativos para o meio ambiente e para a saúde humana (Bueno et al., 2012; Garcia e Alves Filho, 2005; Gazzoni, 2012). Considerando os problemas que ocorrem nas lavouras de soja em consequência do mau uso do controle químico no manejo de pragas e as exigências cada vez maiores por ambientes mais sustentáveis, as alternativas de controle biológico capazes de reduzir o impacto do sistema agrícola ao meio ambiente são cada vez mais demandadas (Parra et al., 1987; Corrêa-Ferreira et al., 2011; Bueno et al., 2012b).

MIP (Manejo Integrado de Pragas)

O Manejo Integrado de Pragas (MIP) é um conjunto de ferramentas que tem como finalidade manter a população de pragas em níveis equilibrados, que não causem danos, levando em consideração fatores ecológicos, econômicos e sociológicos e buscando reduzir os custos de produção, sem colocar em risco a produtividade (Fig. 3). Para a implantação do MIP, algumas táticas básicas são necessárias, tais como: conhecer a biologia e ecologia das pragas; identificar a espécie e a quantidade das pragas que causam os danos, realizar o monitoramento e amostragens desses insetos; analisar a fenologia da planta, fatores climáticos, além de verificar os inimigos naturais presentes no agroecossistema, a fim de tomar a melhor decisão de acordo com todo o levantamento realizado. Após essa etapa, podem ser utilizadas um conjunto de ações de controle das pragas, sendo elas: Controle cultural – manutenção de culturas alternativas, eliminação de plantas daninhas por exemplo; Controle biológico – preservação e liberação inimigos naturais; Controle comportamental – utilização de semioquímicos para interromper a reprodução da praga e plantas repelentes; Controle genético; Controle varietal e Controle químico- utilização de inseticidas mais seletivos (Embrapa 2020; Bueno et al., 2012) (Fig. 3).

Assim, a principal estratégia do MIP é manter a produtividade da cultura ao utilizar de maneira racional as tecnologias e ferramentas disponíveis, com a finalidade de reduzir os impactos no ambiente e na saúde humana, dos trabalhadores presentes na cultura e dos consumidores, na intenção de reduzir de maneira significativa a exposição química e os riscos de intoxicação por defensivos químicos (Alves Filho, 2001; Garcia e Alves Filho, 2005).



Fonte: Embrapa, 2020

Figura 3: Bases e pilares do MIP (Manejo Integrado de Pragas)

Controle Biológico

O controle biológico é a ação de parasitóides, predadores ou entomopatógenos na redução da população das pragas agrícolas, mantendo as densidades desses organismos numa média mais baixa do que ocorreria na ausência desses agentes, reestabelecendo o balanço da natureza naquele ambiente (CNPMS, 1995, Parra 2006). Nos agroecossistemas, o uso desses inimigos naturais, conhecidos como agentes de controle biológico, são essenciais para diminuir o uso de agrotóxicos. Essa redução do uso de agrotóxicos associado à busca por uma maior sustentabilidade do sistema produtivo, melhores condições ambientais e qualidade de vida, vem fazendo que os agricultores adotem técnicas de manejo sustentável de pragas, dentre as quais, o controle biológico merece destaque (Parra et al. 2002; Nava, 2007).

Sendo assim, o controle biológico constitui uma tática muito importante e fundamental para os programas de manejo integrado de pragas, a fim de ser uma alternativa viável ao uso unilateral de produtos químicos de amplo espectro de ação (Cruz, 1994).

Tipos de estratégias de controle biológico:

Controle Biológico Natural

O Controle Biológico Natural refere-se à manutenção da população de inimigos naturais que ocorrem nos ambientes e controlam naturalmente as pragas nos diferentes agroecossistemas, sendo responsáveis pela mortalidade natural e manutenção do equilíbrio da população de pragas (Moraes et al.,1991; Parra et al. 2002). Pode ser observado em ambientes que não são impactados por práticas errôneas de manejo, como o uso abusivo de químicos, por exemplo. Seus benefícios podem ser maximizados quando o manejo agrícola é realizado de forma correta, com o objetivo de preservar os inimigos naturais do ambiente (Bueno et al. 2012).

Controle Biológico Aplicado

Controle Biológico Aplicado é uma técnica de liberação de inimigos naturais de forma aumentativa ou inoculativa, nos diversos agroecossistemas, com a finalidade de controlar uma ou mais pragas presentes no ambiente. Os inimigos naturais podem ser obtidos em coleta no campo, produzidos em criações massais em laboratórios e liberados nas lavouras para elevar o número de agentes naturais de controle biológico incidentes no campo e dessa forma reduzir a infestação da praga-alvo (Parra et al. 2002, Moscardi et al., 2011; Bueno et al. 2012).

Controle Biológico Clássico

O Controle Biológico Clássico refere-se à importação de inimigos naturais da região de origem da praga-alvo. Após a importação, o agente de controle biológico passa pela quarentena e avaliação, para posterior liberação a campo para controle da praga invasora (Parra et al. 2002, van Lenteren et al. 2017). Este tipo de controle refere-se à introdução e à manutenção de inimigos naturais exóticos em áreas em que eles não pertenciam previamente (Parra et al., 2002).

Inimigos Naturais

Os inimigos naturais são os agentes de controle que pertencem a determinados agroecossistemas. Entre esses organismos, destacam-se 3 grupos: os parasitoides, entomopatógenos e os predadores (Berti Filho e Ciociola 2002; Costa et al., 2006). Muitas espécies de inimigos naturais, são observados nas lavouras de soja, diminuindo as populações dos percevejos e mantendo-as abaixo do nível de dano econômico para a produtividade (Bueno, 2012; Correa- Ferreira, 1993).

Parasitóides como agentes de controle

Os insetos parasitoides são organismos que apresentam ao menos uma fase do seu ciclo de desenvolvimento associado a um hospedeiro, a fim de utilizarem os recursos necessários para completarem seus ciclos de vida. Estes insetos são caracterizados por utilizarem apenas um único indivíduo hospedeiro em todo o seu ciclo biológico, diferentemente de insetos predadores que consomem diversas presas ao longo de sua vida (Bueno et al. 2012). Existem diversos tipos de parasitóides que atacam espécies hospedeiras em diferentes fases de desenvolvimento, podendo, assim, parasitar ovos, larvas, pupas ou adultos (Parra et al. 2002, Bueno et al. 2012). Estima-se que existam cerca de 200 mil espécies de parasitoides divididas principalmente nas ordens Hymenoptera e Diptera, podendo ser classificados como endoparasitoides ou ectoparasitoides e dependendo do seu desenvolvimento, podem ser gregários (quando várias larvas do parasitoide completam o desenvolvimento no hospedeiro) ou solitários (quando apenas uma larva completa o desenvolvimento no hospedeiro) (Parra et al. 2002).

Trissolcus basalís

Trissolcus basalís é um microhimenóptero (Hymenoptera: Scelionidae), uma pequena vespa de cor preta brilhante, de 1 mm de comprimento. Os organismos adultos possuem vida livre e colocam seus ovos dentro dos ovos dos percevejos com consequente morte do embrião. *T. basalís* parasita ovos de espécies variadas de percevejos, sendo mais constante em *N. viridula*, *P. guildinii* e *E. heros*. Após o parasitismo, dentro dos ovos do hospedeiro, os parasitóides passam por diferentes estágios de desenvolvimento: ovo, larva e pupa, com durações médias de 17 horas, 4 e 6 dias, respectivamente. O ovo torna-se mais escuro conforme ocorre o desenvolvimento do parasitoide dentro dele, sendo bastante perceptível a mudança de coloração. Após finalizar todo o ciclo de desenvolvimento, os adultos de *T. basalís* emergem

por um orifício circular na parte de cima do ovo. Os machos emergem um a dois dias antes das fêmeas, e ficam à espera delas para que ocorra a cópula. Após a cópula, em poucos minutos a fêmea acasalada já está pronta para começar a oviposição. A fêmea de *T. basalis* encontra os ovos do hospedeiro através de substâncias (caïromônios) presentes na postura e os seleciona para iniciar a oviposição. Apenas uma única vespa completa o desenvolvimento dentro de cada ovo parasitado. A longevidade média dos adultos de *T. basalis* é em média de 30 dias em 25°C, mas podem sobreviver até 120 dias em temperaturas próximas a 18°C (Correa-Ferrera e Panizzi 1999) (Fig. 4).



Fonte: Correia-Ferreira e Panizzi (1999)

Figura 4: Ciclo de vida do parasitóide *Trissolcus basalis* e aspecto dos ovos parasitados em diferentes fases do desenvolvimento embrionário (Fotos de J.F. Haydu).

Telenomus podisi

O parasitóide de ovos *T. podisi* é uma vespa microhimenoptera (Hymenoptera: Scelionidae) solitária, de vida livre, com aproximadamente 1mm de comprimento, sua coloração é preta e se alimenta de néctar ou mel quando adulto (Johnson 1984, Pacheco e Corrêa-Ferreira 2000, Bueno *et al.* 2012). A espécie apresenta dimorfismo sexual evidenciado através das antenas, onde as fêmeas apresentam antenas clavadas e os machos filiformes (Johnson 1984). Após a oviposição, o ciclo de desenvolvimento biológico da espécie até a fase adulta ocorre dentro do ovo e pode ser realizado em diferentes hospedeiros da família

Pentatomidae, Scutelleridae e Coreidae (Margaría et al. 2009; Bueno et al. 2012), sendo apto a diversas condições climáticas. A duração total do ciclo de desenvolvimento é de cerca 10 a 13 dias quando estão submetidos a temperaturas entre 25 a 32°C (Torres et al. 1997).

Em laboratório, a vespa vive aproximadamente até 54 dias dependendo da temperatura, tipo de alimentação, exposição aos hospedeiros e densidade de fêmeas (Johnson 1984). Em temperaturas constantes, a 25 °C, a espécie vive em média 30 dias utilizando *E. heros* como hospedeiro (Pacheco e Corrêa-Ferreira 1998).

Competição entre os parasitoides

Na natureza, a competição por recursos é um fenômeno comum entre os organismos (Begon et al., 2006) A competição entre indivíduos da mesma espécie é conhecida como competição intraespecífica e pode ocorrer quando vários indivíduos da mesma espécie exploram ou podem explorar as mesmas fontes de recursos, às vezes ao mesmo tempo (Couchoux e Van Nouhuys, 2014). A competição intraespecífica entre fêmeas nas diferentes espécies, especialmente em Scelionidae, é capaz de ocasionar mudanças na razão sexual da prole, principalmente em criações em laboratório (Waage 1982). Quando a mesma espécie de parasitoide ataca um mesmo hospedeiro, pode ocorrer o superparasitismo, ou seja, quando a fêmea coloca um ovo em um hospedeiro já parasitado por conspecífico (Montoya et al., 2000b; 2003; González et al., 2014). Para evitar o superparasitismo, após a deposição dos ovos, as fêmeas “raspam” o cório do ovo com seu ovipositor, a fim de evitar a oviposição repetida da espécie (Gauld e Bolton 1988), sendo considerada uma estratégia adaptativa dos parasitoides (Fig. 5).



Fonte: Autor

Figura 5: *Telenomus podisi* marcando com o ovipositor o ovo de *Euschistus heros* após parasitismo.

Quando duas espécies diferentes competem pelo mesmo hospedeiro, pode ocorrer o multiparasitismo, quando um parasitóide ataca um hospedeiro que já foi atacado por outra espécie parasitóide (Godfray 1994). Esta interação envolve forte competição, principalmente em endoparasitóides solitários.

Sabe-se que em sistemas em que dois parasitoides exploram o mesmo hospedeiro, a competição pode excluir uma das espécies (Hassel, 1986), ou levar ao compartilhamento de recursos, facilitando a coexistência entre as espécies (Schoener, 1974; Durant, 1998). Em parasitóides, a competição leva a uma forte pressão de seleção para otimizar estratégias de forrageamento, devido à forte relação entre a taxa de encontro do hospedeiro e sucesso da prole. Assim, a coexistência pode ocorrer entre dois ou mais parasitóides que compartilham a mesma espécie e usam o mesmo estágio de vida do hospedeiro, desde que os níveis de antagonismo entre eles sejam mediados por vários traços da história de vida, incluindo grau de especificidade do hospedeiro, eficiência de busca, tamanho do corpo das fêmeas, carga de ovos e capacidade de discriminar entre hospedeiros parasitados uns pelos outros, de maneira a diluir a competição. Essas características por sua vez, pode ser diferentemente afetada pelo tamanho e estrutura do habitat (Pedersen 2004).

Ao competir diretamente por hospedeiros, as fêmeas parasitóides também podem exibir comportamentos agressivos diante de outras fêmeas competidoras, ajustar seu tempo de forrageio ou decidir em investir na defesa do patch (conjunto de hospedeiros) ao invés de deixar o patch explorado e sair para procurar outros hospedeiros não parasitados, o que pode ser prejudicial para uma perspectiva de controle biológico ao longo do tempo (Field et al. 1998; Mohamad et al., 2015).

A competição também pode ocorrer de maneira intrínseca, quando larvas da mesma espécie (superparasitismo) ou de espécies diferentes (multiparasitismo) competem e se desenvolvem dentro do mesmo hospedeiro (Boivin e Brodeur, 2006; Harvey et al., 2013). Sabe-se que nos parasitoides solitários, apenas uma larva pode se desenvolver e conseqüentemente, as demais são eliminadas geralmente no primeiro instar larval. Em geral, uma espécie de parasitóide exclui outras espécies supranumerárias por inibição fisiológica, ataque físico ou ambos os mecanismos (Fisher, 1963; Fisher, 1971; Godfray, 1994; Salt, 1963).

A competição intrínseca pode impactar o desenvolvimento de imaturos parasitoides, uma vez que o parasitóide sobrevivente pode sofrer custos de fitness devido a alterações quantitativas e qualitativas dos recursos do hospedeiro (Harvey et al., 2009, 2013).

Entender os mecanismos que explicam a coexistência ou exclusão entre parasitoides durante a competição pode ser muito útil para a aplicação destes inimigos naturais em programas de controle biológico (Sorribas et al., 2010). A ocorrência e a utilização de *T. basalis* e *T. podisi* como agentes de controle biológico de *E. heros* tem sido relatada em cultivos de soja (Corrêa-Ferreira, 1993). Dessa forma, o estudo dos efeitos diretos e indiretos da competição entre estas espécies parasitoides por ovos de *E. heros* pode auxiliar no entendimento do processo de regulação populacional do hospedeiro, contribuindo para o planejamento e manejo do controle biológico em lavouras de soja.

REFERÊNCIAS

Alves Filho, J. P., 2001. Medidas individuais de proteção no trabalho com agrotóxicos: indicações básicas e limitações. In: Simpósio Internacional De Tecnologia De Aplicação De Agrotóxicos: eficiência, economia e preservação da saúde humana e do ambiente, 2. Jundiaí. Anais. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, p. 1-8.

Assad, E. D., Pinto, H. S., Zullo Junior, J., Marin, F. R., Pellegrino, G. Q., Evangelista, S. R., Otavian, A. F., 2008. Aquecimento global e a nova geografia da produção agrícola no Brasil, Brasília, DF: Embaixada Britânica, p. 66-70.

Begon, M., Townsend, C. R., Harper, J. L., 2006. Ecology: From Individuals to Ecosystems. 4. ed. Malden: Blackwell Publishing. p. 46.

Berti Filho E. e Ciociola A.I., 2002. Parasitoides ou predadores? Vantagens e desvantagens. In: Parra, J. R. P., Botelho S. M., Côrrea-Ferreira, B. S., Bento, J. M. S., Controle Biológico no Brasil: parasitoides e predadores. São Paulo: Manole, p. 29-41.

Borlachenco, N. G. Cintra., Gonçalves, A, B., 2017. Expansão agrícola: elaboração de indicadores de sustentabilidade nas cadeias produtivas de Mato Grosso do Sul. Interações (Campo Grande). 18, p. 119-128. [https://doi.org/10.20435/1984-042x-2017-v.18-n.1\(09\)](https://doi.org/10.20435/1984-042x-2017-v.18-n.1(09)).

Bortolotto, O. C., Pomari-Fernandes, A., Bueno, R. C. O., Bueno, A. De F., Kruz, Y.K.S., Queiroz, A.P., Sanzovo, A. Ferreira, R.B., 2015. The use of soybean integrated pest management in Brazil: a review. Agron. Sci. Biotechnol. 1, p. 25–32.

Bueno, A. F., Sosa-Gómez, D. R., Corrêa-Ferreira, B. S., Moscardi, F., Bueno, R. C. O. F., 2012. Inimigos naturais das pragas da soja. In: Hoffmann-Campo, C. B., Corrêa-Ferreira, B. S., Moscardi, F. (Eds.), Soja: manejo integrado de insetos e outros Artrópodes-praga. Brasília, DF: Embrapa, pp. 493-630.

Ciclo De Palestras Sobre Controle Biológico De Pragas, 4., 1995. Campinas. Anais. Campinas: Sociedade Entomológica do Brasil, 1995. p. 48-92.

Cividanes, F. J. Determinação das exigências térmicas de *Nezara viridula* (L., 1758), *Piezodorus guildinii* (West., 1837) e *Euschistus heros* (Fabr., 1798) (Heteroptera: Pentatomidae) visando ao seu zoneamento ecológico., 1992. 100 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – USP, Piracicaba.

Cividanes, F. J., Parra, J. R. P., 1994. Biologia em diferentes temperaturas e exigências térmicas de percevejos pragas da soja. II. *Euschistus heros* (Fabr.) (Heteroptera: Pentatomidae). Pesquisa Agropecuária Brasileira, 29, n. 12, p. 1841-1846, <https://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/4241/1532>

Conab - Companhia Nacional de Abastecimento., 2020. Acompanhamento de safra brasileira: grãos, Décimo segundo levantamento, setembro Brasília - DF. <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/> (acessado em 26 setembro 2020).

Corrêa-Ferreira, B. S., C. E. O. Zamataro., 1989. Capacidade reprodutiva e longevidade dos parasitóides de ovos *Trissolcus basalis* (Wollaston) e *Trissolcus mitsukurii* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae). Rev. Bras. Biol. 49, p. 621-626.

Corrêa-Ferreira, B. S., 1993. Utilização do parasitóide de ovos *Trissolcus basalis* (Wollaston) no controle de percevejos da soja. Londrina: Embrapa CNPSo (Embrapa-CNPSo. Circular Técnica, 11). <https://core.ac.uk/download/pdf/15439609.pdf>

Corrêa-Ferreira, B.S., Panizzi, A.R., 1999. Percevejos da soja e seu manejo. Circular Técnica 24. Londrina, Embrapa Soja, p. 45.

Corrêa-Ferreira, B. S., Krzyzanowski, F. C., Minami, C. A., 2009. Percevejos e a qualidade da semente de soja – série sementes. Embrapa-CNPSO, Londrina. Circular Técnica, p. 67.

Corrêa-Ferreira, B. S., Alexandre, T. M., Pellizzaro, E. C.; Moscardi, F., Bueno, A. F., 2010a. Práticas de manejo de pragas utilizadas na soja e seu impacto sobre a cultura. Londrina: Embrapa Soja, p. 16. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 78).

Corrêa-Ferreira, B. S.; Lima, D., Krzyzanowski, F. C., 2010b. Ocorrência e dano de percevejos em cultivares de soja de crescimento determinado e indeterminado. In: Reunião de Pesquisa de Soja da Região Central do Brasil, 31, 2010, Brasília, DF. Resumos. Londrina: Embrapa Soja, p. 78-80.

Corrêa-Ferreira, B. S., Moscardi, F., Bueno, E. F., 2011. Soja: controle biológico aplicado. *Ciência e Ambiente*, 43, p. 133-146.

Costa, V. A., Bertil, E. F., Sato, M. E., 2006. Parasitóides e predadores no controle de pragas. In: Pinto, A. S.; Nava, D. E.; Rossi, M. M. Malerbosouza, D. T. Controle biológico de pragas na prática. Piracicaba (SP): CP2, p. 25-34.

Couchoux, C. e van Nouhuys, S., 2014. Effects of intraspecific competition and host-parasitoid developmental timing on foraging behaviour of a parasitoid wasp. *J. Insect Behav.* 273, p. 283-301.

Cramer, H. H., 1967. Plant protection and world crop production. Leverkusen: Bayer, p. 524. <https://doi.org/10.1017/S0014479700010036>

Cruz, I., 1994. Manejo Integrado De Pragas De Milho Com Ênfase Para O Controle Biológico. Embrapa Milho e Sorgo. <https://www.embrapa.br/buscade-publicacoes/-/publicacao/478707/manejo-integrado-de-pragas-de-milho-com-enfase-aocontrole-biologico>

Durant, S. M., 1998. Competition refuges and coexistence: an example from Serengeti carnivores. *J. Anim. Ecol.* 67, p. 370–386. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2656.1998.00202.x>

Embrapa. Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária. Características da soja., 2018.https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/soja/arvore/CONTAG01_24_271020069131.html (acessado 25 setembro 2020).

Embrapa., 2020. Conceitos de MIP: módulo 02. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Disponível em: <<http://www.cnpsa.embrapa.br/caravana/pdfs/modulo2.pdf>> ,

Fisher, R. C., 1963. Oxygen requirements and the physiological suppression of supernumerary insect parasitoids. *J. Exp. Biol.* 40, p. 531–540.

Fisher, R. C., 1971. Aspects of the physiology of endoparasitic Hymenoptera. *Biol. Rev.* 46 (2), p. 243–278.

Galileo, M. H. M., Gastal, H. A. O. de., Grazia, J., 1977. Levantamento populacional de Pentatomidae (Hemiptera) em cultura de soja (*Glycine Max* (L.) Merr.) no município de Guaíba, RS. *Rev. Bras. Biol.* 37, n. 1, p. 111-120.

Garcia, E. G.; Alves Filho, J. P., 2005. Aspectos de prevenção e controle de acidentes no trabalho com agrotóxicos. São Paulo: Fundacentro.

Gauld, I. e B. Bolton., 1988. *The Hymenoptera*. London, Oxford University Press, p. 332.

Gazzoni, D. L., Oliveira, E. B. de., Corso, I. C., Corrêa-Ferreira, B. S., Villas Bôas, G. L., Moscardi, F., Panizzi, A. R., 1988. Manejo de pragas de soja. Londrina: Embrapa CNPSO, (EMBRAPA/CNPSO. Circular técnica, 5).

Gazzoni, D. L., 2012. Perspectivas do manejo de pragas, in: Hoffmann-Campo, C.B., Corrêa Ferreira, B.S., Moscardi, F. (Eds.), *Soja: Manejo Integrado de Insetos e outros Artrópodes-Praga*. Embrapa, Brasília, DF, p.789–829.

Godfray, H. C. J., 1994. Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology. *Environ. Entomol.* 24 (2), p. 483–484. <https://doi.org/10.1093/ee/24.2.483>

Grazia, J., Del Vecchio, M. C., Balestieri, F. M. P., Ramiro, Z.A., 1980. Estudo das ninfas de pentatomídeos (Heteroptera) que vivem sobre soja (*Glycine max* (L.) Merrill): I – *Euschistus heros* (Fabricius, 1798) e *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v. 9, p. 39-51.

Hance, T., Baaren, J. van, Vernon, P., Boivin, G., 2007. Impact of temperature extremes on parasitoids in a climate change perspective. *Annu. Rev. Entomol.* 52, p. 107-126. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.52.110405.091333>

Hassell, M. P., 1986. Parasitoids and population regulation J. Waage D. Greathead (Eds) *Insect Parasitoids Symposia of the Royal Entomological Society* 13, Academic Press London, p. 201–224.

Johnson N. F., 1984. Systematics of Nearctic Telenomus: Classification and Revisions of the podisi and pbymatae Species Groups (Hymenoptera: Scelionidae). *Bulletin of the Ohio Biological Survey*, 6: p. 113.

Körner, C., 2000. Biosphere responses to CO₂ enrichment. *Ecology Applied* 10, p. 1590-1619. [https://doi.org/10.1890/1051-0761\(2000\)010\[1590:BRTCE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(2000)010[1590:BRTCE]2.0.CO;2)

Körner, C., 2003. Ecological impacts of atmospheric CO₂ enrichment on terrestrial ecosystems. *Philos. Trans. R. Soc. A* 361, p. 2023- 2041. <https://doi.org/10.1098/rsta.2003.1241>

Mc Laughlin, J. F., Hellmann, J. J., Boggs, C. L., Ehrlich, P. R., 2002. Climate change hastens population extinctions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 99, p. 6070-6074. <https://doi.org/10.1073/pnas.052131199>

Margaría, C. B., Loíacono, M. S., Lanteri, A. A., 2009. New geographic and host records for scelionid wasps (Hymenoptera: Scelionidae) parasitoids of insect pests in South America. *Zootaxa*, 2314: p. 41-49.

Metcalf, R., 1996. Applied entomology in the twenty-first century: needs and prospects. *Am. Entomol* 42, p. 216-227.

Montoya, P., Liedo, P., Benrey, B., Barrera, J. F., Cancino, J. e 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 (1): p. 47-54.

Montoya, P., Benrey, B., Barrera, J. F., Zenil, M., Ruiz, L. e Liedo, P. 2003. Oviposition behavior and conspecific host discrimination in *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae), a fruit fly parasitoid. *Biocontrol Science and Technology* 13 (7): p. 683-690.

Moraes, R. R., Loeck, A. E., Belarmino, L. C., 1991. Inimigos naturais de *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) e de *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae) em soja no Rio Grande do Sul. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 26, p. 57-64.

Moscardi, F., Souza, M. L. de; Castro, M. E. B. de., Moscardi, M. L., Szewczyk, B., 2011. Baculovirus pesticides: present state and future perspectives. In: Ahmad, L. et al. (Ed.). *Microbes and microbial technology agricultural and environmental applications*. 1st ed. Chapter 16. Springer Science Business Media. p. 415-445.

Mourão, A. P. M., Panizzi, A. R., 2000. Diapausa e diferentes formas sazonais em *Euschistus heros* (Fabr.) (Hemiptera: Pentatomidae) no Norte do Paraná. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v. 29, p. 205-218.

Nava, D. E., 2007. et al. Insetos praga e seu controle. In: Antunes, L. E.C.; Raseira, M.C.B. (Ed.). *Cultivo de amoreira-preta (Rubus spp.)*. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p.79-94.

Oliveira, C. M., Auad, A. M., Mendes, S. M., Frizzas, M. R., 2014. Crop losses and the economic impact of insect pests on Brazilian agriculture. *Crop Protection*. 56, p. 50-54. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.10.022>

Pacheco, D. J. P., Corrêa-Ferreira, B. S., 1998. Potencial reprodutivo e longevidade do parasitóide *Telenomus podisi* Ashmead, em ovos de diferentes espécies de percevejos. An. Soc. Entomol. Brasil 27, p. 585-591.

Panizzi, A. R., Slansky Junior, F., 1985. Review of phytophagous pentatomids (Hemiptera: Pentatomidae) associated with soybean in the Americas. Fla. Entomol. 68, p. 184-214. doi:10.2307/3494344.

Panizzi, A. R., Mc Pherson, J. E., James, D. G., Javahery, M., McPherson, R. M., 2000. Stink bugs (Pentatomidae). In: Schaefer, C.W.; Panizzi A.R. (Ed.). Heteroptera of economic importance. Boca Raton: CRC, p. 421-474.

Panizzi, A.R., 2004. Neotropical brown stink bug, *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae). In: CAPINERA, J.L. (Ed.). Encyclopedia of Entomology. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.

Panizzi, A. R., Bueno, A de F., Silva, F. A. C., 2012. et al. Insetos que atacam vagens e grãos. In: Hoffmann-Campo, C.B. et al. Soja manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. Londrina: Embrapa Soja. Cap.5, p. 335-420.

Panizzi. A. R., 2013. History and contemporary perspectives of the integrated pest management of soybean in Brazil. Neotrop. Entomol. 42, p. 119–127. <https://doi.org/10.1007/s13744-013-0111-y>

Parra, J. R. P., Zucchi, R. A., Silveira Neto, S., 1987. Biological control of pests through egg parasitoids of the genera *Trichogramma* and/ or *Trichogrammatoidea*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 82, p. 153-160. <https://doi.org/10.1590/S0074-02761987000700027>

Parra, J. R. P., Botelho, P. S. M., Corrêa-Ferreira, B. S., Bento, J. M. S., 2002. Controle biológico: terminologia. In: Parra, J. R. P.; Botelho, P. S. M., Correa-Ferreira, B. S., Bento, J. M. S. (Ed.). Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores. São Paulo: Manole, p. 1-16.

Parra, J. R. P., 2006. A prática do controle biológico no Brasil. In: Pinto, A. S.; Nava, D. E; Rossi, M. M.; Malerbo-Souza, D. T. (Ed.). Controle biológico de pragas na prática. Barueri: Prol Editora. p. 11-24.

Pedersen, B. S., Mills, N. J., 2004. Single versus multiple introduction in biological control: the roles of parasitoid efficiency, antagonism and niche overlap. *J. Appl. Ecol.* 41: p. 973–84

Pimentel, D., 1976. World food crisis: energy and pests. *Bulletin of the Entomological Society of America*. 22, p. 20-26. <https://doi.org/10.1093/besa/22.1.20>.

Powell, J. E., Shepard, M., 1982. Biology of Australian and United States strains of *Trissolcus basalis*, a parasitoid of the green vegetable bug, *Nezara viridula* Australian *J. Ecol.* 7, p. 181- 186. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.1982.tb01591.x>

Rider, D. A., 2011. Pentatomoidea Home Page: number of genera & species of Pentatomidae. North Dakota: North Dakota State University. Disponível online em: http://www.ndsu.nodak.edu/ndsu/rider/Pentatomoidea/Classification/Genus_Species_Number_s.htm

Salt, G., 1963. The defense reactions of insects to metazoan parasites. *Parasitology* 53 (3–4), p. 527–642.

Sosa-Gomez, D. R., Côrrea-Ferreira, B. S., Hoffmann-Campo, C. B., Corso, I. C., Oliveira, L. J., Moscardi, F., Panizzi, A. R., Bueno, A. de F., Hirose, E., Roggia, S., 2014. Manual de identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja. 3. ed. Londrina: Embrapa Soja, p. 100.

Schoener, T. W., 1974. Resource partitioning in ecological communities. *Science* 185, p. 27–39. <http://www.jstor.org/stable/1738612>

Sugayama, R. L., Silva, M. L., Silva, S. X., de B., Ribeiro, L. C., Rangel, L. E. P., 2015. Defesa vegetal: fundamentos, ferramentas, política e perspectivas. Belo Horizonte: Sociedade Brasileira de Defesa Agropecuária.

Rolston, L. H., 1983. Revision of the genus *Euschistus* in middle America (Hemiptera, Pentatomidae, Pentatomini). *Entomologica Americana*, New York, v, 48, p. 1-102.

Theurillat, P., Guisan, A., 2001. Potential impact of climate change on vegetation in the European Alps: a review. *Clim. Change.* 50, p. 77-109. <https://doi.org/10.1023/A:1010632015572>

Torres, J. B., Pratisoli, D. e Zanuncio, J. C., 1997. Exigências térmicas e potencial de desenvolvimento dos parasitóides *Telenomus podisi* Ashmead e *Trissolcus brochymenae* (Ashmead) em ovos do percevejo depredador *Podisus nigrispinus* (Dallas). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 26: p. 445-454.

van Lenteren, J. C., Bolckmans, K, Kohl, J., Ravensberg, W. J., Urbaneja, A., 2017. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl*. doi:10.1007/s10526-017-9801-4

Villas-bôas, G. L., Panizzi, A. R., 1980. Biologia de *Euschistus heros* (Fabricius, 1789) em soja (*Glycine max* L. Merrill). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v. 9, p. 105-113.

Waage, J. K. 1982. Sib-mating and sex ratio strategies in scelionidae wasps. *Ecological Entomology* 7: 103–112. Waage, J. K. e M. P. Hassel. 1982. Parasitoids as biological control agents – a fundamental approach. *Parasitology* 84: p. 241–268.

CAPÍTULO 1 – Exploração simultânea de parasitoides: Efeitos da competição intra e interespecífica entre fêmeas de *Telenomus podisi* e *Trissolcus basalis* por ovos de *Euschistus heros*

Resumo

As interações competitivas dos parasitoides *Telenomus podisi* e *Trissolcus basalis* por ovos do percevejo marrom, *Euschistus heros* nas culturas de soja podem impactar a eficiência do controle biológico da praga de diferentes formas, como por exemplo, alterando as taxas de parasitismo, o sucesso reprodutivo da prole dos parasitoides e a permanência e abundância das espécies no campo. Neste contexto, este estudo teve como objetivo analisar os efeitos diretos das interações competitivas intra e interespecíficas sobre o desempenho reprodutivo das espécies parasitoides que interagem de maneira direta durante a busca por ovos do hospedeiro. Para isto, foram definidos três cenários experimentais, onde duas fêmeas parasitoides tiveram disponíveis por 24h, 20 ovos não parasitados do percevejo: (i) *T. basalis* × *T. basalis*; (ii) *T. podisi* × *T. podisi* e (iii) *T. basalis* × *T. podisi*. Para cada cenário experimental, foram avaliados os efeitos da competição (intra e inter-específicas) sobre as taxas de parasitismo, taxas de emergência, padrões de emergência e razão sexual das espécies. As maiores taxas de parasitismo e viabilidade da prole ocorreram quando somente a espécie *T. podisi* estava presente. Na competição inter-específica, quando ambas as espécies forrageavam pelo hospedeiro, as taxas de parasitismo foram altas, porém, a viabilidade da prole foi reduzida devido a ocorrência de multiparasitismo. A análise dos padrões de emergência da prole dos parasitoides mostraram que *T. basalis* apresentou menor tempo de desenvolvimento no interior do ovo do hospedeiro, comparado a *T. podisi*. A competição interespecífica não levou a mudanças no tempo de desenvolvimento da prole dos parasitoides. Os resultados encontrados neste estudo mostram que a ocorrência de competição entre espécies parasitoides no campo deve ser considerada para a definição do agente biológico a ser usado e do planejamento da melhor estratégia para a liberação dos parasitoides, a fim de aumentar a eficiência do tipo controle biológico a ser aplicado.

Palavras-chave: controle biológico; sucesso reprodutivo; padrão de emergência; multiparasitismo.

Simultaneous exploration of parasitoids: Effects of intra and interspecific competition between *Telenomus podisi* and *Trissolcus basalis* females by *Euschistus heros* eggs

Abstract

Competitive interactions between the species parasitoids *Telenomus podisi* and *Trissolcus basalis* for eggs of *Euschistus heros* in soybean crops can impact the efficiency of biological control of the pest by different ways, such as alteration of parasitism rates, the reproductive success of parasitoid offspring, and the permanence and abundance of the species at the field. In this context, this study aimed to analyze the effects of intra- and interspecific competitive interactions on the reproductive performance of parasitoid species that interact directly during the search for host eggs. For this purpose, it was used three experimental scenarios, in which two female parasitoids had twenty eggs available for 24h: (i) *T. basalis* × *T. basalis*; (ii) *T. podisi* × *T. podisi* and (iii) *T. basalis* × *T. podisi*. For each experimental scenario, the effects of competition (intra- and interspecific) on parasitism rates, offspring viability, emergence patterns, and sex ratio of the species were evaluated. The highest parasitism and emergence rates occurred when *T. podisi* was the unique species present. In interspecific competition, when both species were foraging for the host, parasitism rates were high, but the offspring's viability was reduced due to the occurrence of multiparasitism. The analysis of parasitoid emergence patterns showed that *T. basalis* had a shorter development time inside the host egg compared to *T. podisi*. Interspecific competition did not lead to changes in the development time of the parasitoid's offspring. The results found in this study indicated that the occurrence of competition between parasitoid species at the field should be considered to define of the biological agent to be used and to plan the best strategy for parasitoid releases, in order to increase the efficiency of the type of biological control to be applied.

Keywords: biological control; offspring viability; emergence pattern; host competition; multiparasitism.

1 Introdução

A soja é uma das culturas de maior importância econômica no mundo, sendo cultivada em muitas regiões do país. O grão é muito utilizado em diversos produtos na alimentação humana e animal devido às suas características nutricionais e suas propriedades fisiológicas (Mello Filho, 2004). A cultura é atualmente produzida em todas as regiões brasileiras, com maior concentração no Centro-Oeste, desempenhando importante papel nas exportações do mercado brasileiro (Borlachenco e Gonçalves, 2017; Embrapa, 2018). No Brasil, a produção de soja alcançou recorde de 124,8 milhões de toneladas na safra 2019/2020 (Conab, 2020). No entanto, as culturas do grão sofrem com o ataque de diversos tipos de pragas, com destaque para o grupo dos percevejos, insetos que têm grande importância e impactam de maneira significativa as culturas de soja, causando danos altamente significativos para a produção.

A dinâmica populacional dos percevejos praga tem sido altamente influenciada pelo clima, expansão e manejo da cultura no Brasil. Atualmente, o percevejo marrom da soja, *Euschistus heros* (Fabricius, 1974) passou a ser considerado praga chave da cultura devido ao aumento de sua abundância populacional em regiões que anteriormente prevaleciam populações de outra espécie de percevejo *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758).

O controle desses insetos nas culturas de soja é frequentemente realizado por meio do MIP (Manejo Integrado de pragas), que consiste na adoção de diversas estratégias e ferramentas para que a população das pragas fique abaixo do nível econômico de danos que podem gerar para a cultura. Uma das ferramentas do MIP é a utilização de inimigos naturais, representando uma importante estratégia para reduzir essas pragas na cultura mediante o controle biológico (Bueno et al., 2012; Embrapa, 2020).

Os parasitoides de ovos são os principais inimigos naturais usados em programas de controle biológico dos percevejos da soja, por impedir a eclosão das ninfas da praga, evitando assim danos aos grãos. Espécies dos gêneros *Trissolcus* e *Telenomus* constituem os mais importantes agentes de controle biológico, podendo atacar diversas espécies de percevejos. Dentre estas espécies, *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae) apresenta certa preferência por ovos de *E. heros*, enquanto *Trissolcus basalus* (Wollaston) tem maior preferência e melhor desenvolvimento em ovos de outra espécie de percevejo, *N. viridula* (Corrêa-Ferreira; Panizzi, 1999). Ambas as espécies são encontradas em áreas tropicais e temperadas, sendo aptas a viverem em diversos tipos de clima, o que também favorece a

utilização destes agentes biológicos em diferentes áreas de plantação de soja (Powell e Shepard, 1982; Corrêa-Ferreira e Zamataro, 1989).

O comportamento polífago destes parasitóides tem favorecido o uso desses insetos como agentes de biocontrole, de forma mais específica nos casos em que diferentes espécies de percevejos ocorrem simultaneamente nos campos de soja. Entretanto, ao passo que o hábito polífago facilita o uso das espécies parasitoides no controle biológico, a sobreposição de nichos destes organismos no ambiente também favorece e intensifica a ocorrência de interações competitivas entre espécies (Corrêa-Ferreira, 1993).

Nas interações competitivas, uma espécie pode superar e excluir a concorrente (Hardin, 1960; DeBach 1963), porém, quando existe uma condição satisfatória de recursos no ambiente, as espécies podem evitar a competição por meio da adoção de diferentes estratégias de forrageamento, tornando possível a coexistência dessas espécies em determinado habitat (Schoener, 1974; Durant, 1998; Garcia-Medel et al., 2007). Neste contexto, a presença dos parasitoides *T. basalis* e *T. podisi* em campos de soja pode levar a diferentes consequências para a eficiência do controle biológico da praga (Corrêa-Ferreira, 1993; Corrêa-Ferreira e Panizzi, 1999).

Entender e conhecer os aspectos biológicos e comportamentais dos parasitoides é fator chave na avaliação da eficiência e no aprimoramento do uso de agentes biológicos em programas de controle biológico (Wharton, 1989; Correa-Ferreira, 1993). Sendo assim, a compreensão dos efeitos das interações competitivas de espécies parasitoides utilizadas nos programas de controle biológico pode auxiliar na tomada de decisão da melhor estratégia a ser usada, uma vez que uma ou mais espécies parasitoides presentes ou liberadas no agroecossistema, ao interagirem, podem levar à redução das taxas de parasitismo e consequente redução das taxas de mortalidade do hospedeiro (Murdoch et al., 1996; Weber et al., 1996).

Este estudo teve como objetivo quantificar os efeitos da competição direta entre fêmeas parasitoides de *T. podisi* e *T. basalis* durante o forrageio por ovos de *E. heros* sobre as taxas de parasitismo, taxas de emergência e tempo de emergência da prole. Para isto foram usados diferentes cenários experimentais nos quais, os efeitos da competição direta sobre as taxas de parasitismo, taxas e tempo de emergência da prole das espécies parasitoides foram avaliadas: (i) intra-específica - confronto direto entre fêmeas das mesmas espécies (TB vs TB; TP vs TP) durante o forrageio por ovos do percevejo e (ii) competição inter-específica – confronto direto entre fêmeas de espécies diferentes (TP vs TB).

Os resultados encontrados mostraram que, quando presente somente conspecíficos (competição intraespecífica) a espécie *T. podisi* apresentou maiores taxas de parasitismo e

viabilidade da prole em relação à *T. basalis*. Na competição interespecífica, as taxas de parasitismo foram altas, entretanto, as taxas de viabilidade foram reduzidas, ocasionando menor sucesso reprodutivo das espécies. *Trissolcus basalis* apresentou menor tempo de desenvolvimento e sua prole emergiu em menor período se comparado a espécie *T. podisi* nos cenários de competição intra específica. Quando ambas espécies estavam presentes simultaneamente durante o parasitismo, os padrões de tempo de emergência da prole das espécies não foram alterados.

2 Material e Métodos

2.1 Espécies estudadas

2.1.1 Hospedeiro: *Euschistus heros*

A criação em laboratório dos percevejos se iniciou com insetos fornecidos pelo laboratório de Biologia de Insetos, do Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ/USP. A criação de *E. heros* foi estabelecida em sala climatizada a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, com 12 h de fotofase e U.R. de $60 \pm 10\%$. Casais de *E. heros* foram mantidos em gaiolas teladas de $24 \times 24 \times 10$ cm. Na parte superior das gaiolas foram colocadas 4 tiras de tecido de algodão (3×10 cm) que serviram como substrato para a postura de ovos. Na parte inferior da gaiola, foi fornecida aos insetos, dieta a base de vagens de feijão, amendoim e algodão umedecido com água (Fig. 6). A cada sete dias, as gaiolas eram limpas e a dieta trocada, o algodão foi umedecido com água em dias alternados. Para continuidade da criação, os ovos coletados foram colocados em pequenas placas de Petri (15×2 cm). Após a eclosão das ninfas, estas se desenvolveram nas Placas de Petri e quando alcançaram o segundo instar, foram alocadas nas gaiolas descritas acima, onde permaneceram até a fase adulta (Adaptado, Mendoza, 2016).

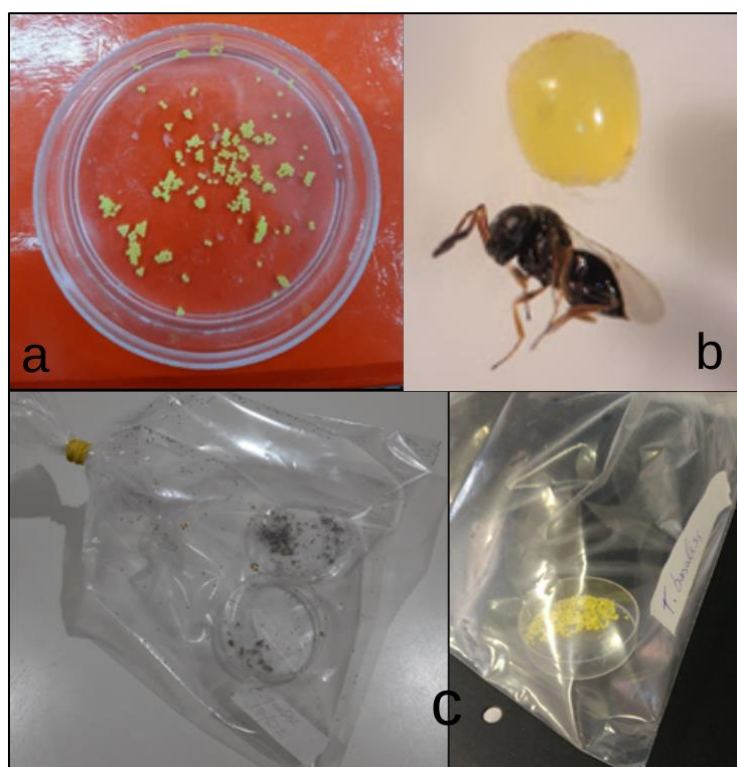


Fonte: Autor

Figura 6: Gaiolas de criação de *Euschistus heros* com a dieta disponibilizada aos insetos.

2.1.2 Parasitoides: *Telenomus podisi* e *Trissolcus basalis*.

A criação em laboratório das espécies parasitoides se iniciou com linhagens parasitoides fornecidas pelo laboratório de Biologia de Insetos, Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ/USP. Os adultos de *T. podisi* e *T. basalis* foram mantidos separados em sacos de polietileno. No interior dos sacos foram fornecidas gotículas de mel puro para alimentação dos parasitoides. Posturas recém obtidas de *E. heros* foram fornecidas aos parasitoides em placas de Petri (15×2 cm) dentro dos sacos (Fig. 7). Após 24 horas, as placas contendo ovos foram retiradas dos sacos e foram mantidas em ambiente climatizado ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, 12 horas de fotofase e U.R de $60 \pm 10\%$) até a emergência dos parasitoides. Após a emergência, os parasitoides adultos foram liberados nos sacos de polietileno para iniciar o novo ciclo.



Fonte: Autor

Figura 7: a) Placa de Petri com posturas de ovos recentes de *Euschistus heros*; b) parasitóide *Trissolcus basalis*; c) saco de polietileno com posturas de ovos recentes de *E. heros* disponibilizadas para parasitismo de *T. basalis* e *Telenomus podisi*.

2.2 Delineamento experimental

Foram analisados os efeitos da competição intra e interespecífica durante a exploração simultânea de parasitoides, ou seja, quando duas fêmeas parasitoides competiam diretamente por ovos ainda não parasitados (sadios) de *E. heros*, a fim de avaliar o potencial das espécies como agentes de controle biológico, considerando a ocorrência da competição entre duas espécies ou a competição entre conspecíficos.

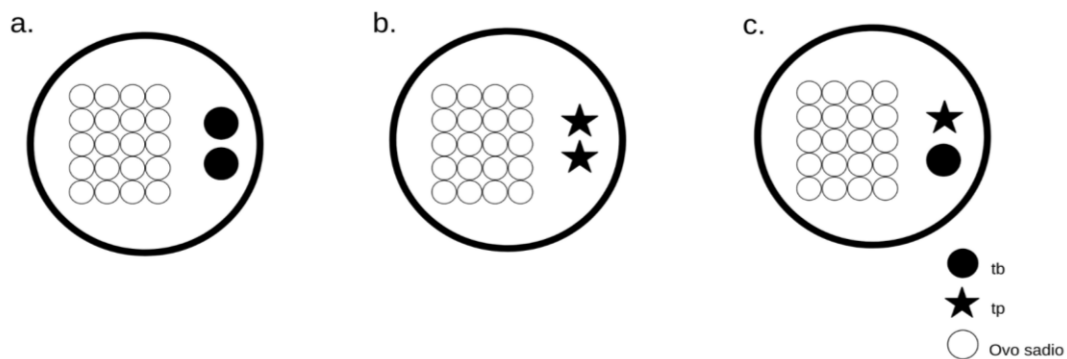
As interações se deram em arenas experimentais, representadas por tubos de ensaios de vidro (2×8 cm) fechados com plástico filme para evitar a fuga dos parasitoides (Fig. 8). Todos experimentos foram realizados no período compreendido entre às 14h e 18h no Laboratório de Ecologia de Interações, no Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva da Universidade Federal de São Carlos.



Fonte: Autor

Figura 8: Arenas experimentais representadas por tubos de ensaios fechados com plástico filme.

No interior de cada arena experimental foram disponibilizados vinte ovos do hospedeiro com até 24h de idade e duas fêmeas parasitoides com aproximadamente 48h de idade, previamente acasaladas. As fêmeas parasitoides receberam mel *ad libitum* até o final da experimentação. Foram quantificados os efeitos da competição intra e interespecífica por ovos de hospedeiro através de 3 cenários experimentais: (TB vs TB) 2 fêmeas de *T. basalis*; (TP vs TP) 2 fêmeas de *T. podisi* e (TB vs TP) uma fêmea de *T. basalis* e uma fêmea de *T. podisi* (Fig. 9). Também foi feito um grupo controle, onde não houve a liberação de parasitoides nas arenas com ovos de *E. heros*. Foram feitas quinze réplicas para cada cenário experimental divididos em três blocos, com respectivamente 4, 6 e 5 réplicas cada.

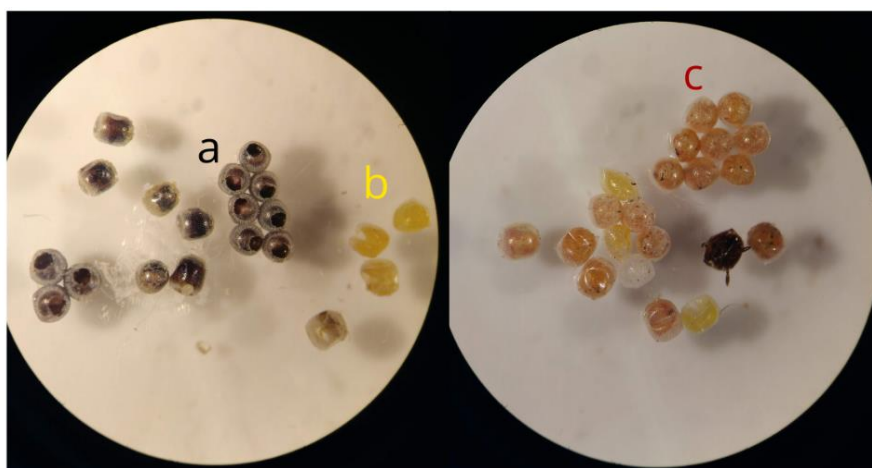


Fonte: Autor

Figura 9: Cenários experimentais para a quantificação dos efeitos da competição intra: (a) TB vs TB; (b) TP vs TP e interespecífica (c) TB vs TP durante o forrageio e parasitismo de fêmeas parasitoides por ovos de *Euschistus heros*.

Após 24h, as fêmeas parasitoides foram retiradas e os ovos acondicionados em placas de Petri (15 × 2 cm) em câmara climática de 25±2°C, UR de 60±10% e fotofase de 14h até a eclosão de ninfas dos percevejos e/ou emergência dos parasitoides. Foram quantificadas as taxas de parasitismo, taxas de emergência (número de parasitoides que emergiram em relação ao total de ovos parasitados) e a razão sexual da prole em cada cenário experimental.

Ao final do parasitismo, os ovos de *E. heros* foram classificados da seguinte maneira: (i) ovos parasitados, (ii) ovos parasitados inviáveis: com conteúdo escurecido ou ovos nos quais foi possível observar a pupa ou o adulto do parasitóide em seu interior mas sem emergência de parasitoides; (iii) ovos inférteis: ovos sem vestígios de desenvolvimento de parasitoides ou ninfas de *E. heros* e (iv) ovos malogrados: ovos nos quais as ninfas do percevejo completaram o desenvolvimento embrionário, mas não foram capazes de sair do ovo (Moreira e Becker, 1986, adaptados para *E. heros*) (Fig. 10).



Fonte: Autor

Figura 10: Classificação dos ovos de *Euschistus heros* após 24 horas de contato com parasitoides. Os ovos foram classificados após período de tempo necessário para o desenvolvimento e emergência da prole dos parasitoides em: **a:** ovos parasitados; **b:** ovos inférteis; **c:** ovos malogrados.

2.2.1 Padrão de emergência

Para analisar e quantificar os efeitos da competição direta por ovos entre fêmeas adultas sobre o tempo de desenvolvimento e as taxas de emergência da prole das espécies nos diferentes cenários experimentais, a quantidade de parasitoides emergidos/dia foi contabilizada a partir da retirada das fêmeas (dia 1) até o dia da última emergência da prole. Ao longo dos dias, os parasitoides emergentes foram quantificados e em seguida foram removidos das arenas experimentais.

2.3 Análise estatística

Para a avaliação dos efeitos do parasitismo nos ovos do hospedeiro após o período de emergência da prole dos parasitoides, foi ajustado modelo multinomial para as proporções de ovos parasitados, ovos parasitados não viáveis, ovos inférteis e ovos malogrados, incluindo os efeitos do cenário experimental (TB vs TB, TP vs TP e TB vs TP) e blocos experimentais no preditor linear. A significância dos efeitos foi avaliada por meio de testes de razão de verossimilhança.

Modelos lineares generalizados com distribuição quasi binomiais foram ajustados aos dados de proporção (taxas de parasitismo, taxa de emergência e razão sexual), incluindo os efeitos dos cenários experimentais, blocos e a interação entre os cenários e blocos no preditor linear. A significância dos efeitos foi avaliada por meio de testes F e comparações múltiplas foram realizadas obtendo-se os intervalos de confiança de 95% para os preditores lineares. A qualidade do ajuste foi avaliada usando gráficos semi-normais com envelopes simulados (Moral et al., 2017).

Para os dados de tempo de emergência foram ajustados modelos de taxa de cura de riscos proporcionais Weibull (Ramires et al., 2020), implementados por meio de gamlss (Rigby e Stasinopoulos, 2005). A fração "curada" representou os insetos que nunca emergiram no período de observação de 24 dias. Os efeitos do cenário experimental, do tipo de ovo e a interação entre eles foram incluídos nos preditores lineares para a média (modelado com um log link), a variância (também modelada com um log link) e a taxa de cura (modelada com um log link). Em seguida, foi executada a seleção retroativa do modelo começando com o preditor linear para a média, depois a variância dada a média e, finalmente, a taxa de cura dada a média e a variância. Usando o modelo final selecionado, foram produzidos gráficos das funções de distribuição cumulativa para cada cenário experimental, que representaram a probabilidade de emergência da prole ao longo do tempo. Todas as análises foram realizadas no software R (R Development Core Team, 2015).

3 Resultados

Em todos os cenários experimentais para competição entre fêmeas adultas, a maioria dos ovos foram parasitados e a prole dos parasitoides foi viável, indicando o potencial das espécies parasitoides como agentes de controle biológico de *E. heros* (Fig.11). Ao final do

parasitismo, a proporção de ovos parasitados, parasitados inviáveis, inférteis e malogrados foi diferente para cada cenário experimental ($LR = 967.35$, $df = 12$, $p < 0.0001$) (Fig. 11). De acordo com as análises, a maior taxa de emergência de prole ocorreu no cenário TP vs TP. Em contrapartida, as menores taxas de emergência se deram no cenário TB vs TB, e a maior ocorrência de inviáveis aconteceu no cenário TB vs TP. Os três cenários não apresentaram ocorrência de ovos malogrados e a eclosão de ninfas foi reduzida. No grupo controle, no qual os parasitoides estavam ausentes, a viabilidade dos ovos de *E. heros* foi alta, indicando que as taxas de mortalidade de *E. heros* observadas nos cenários experimentais estudados foram majoritariamente devido a ação dos parasitoides.

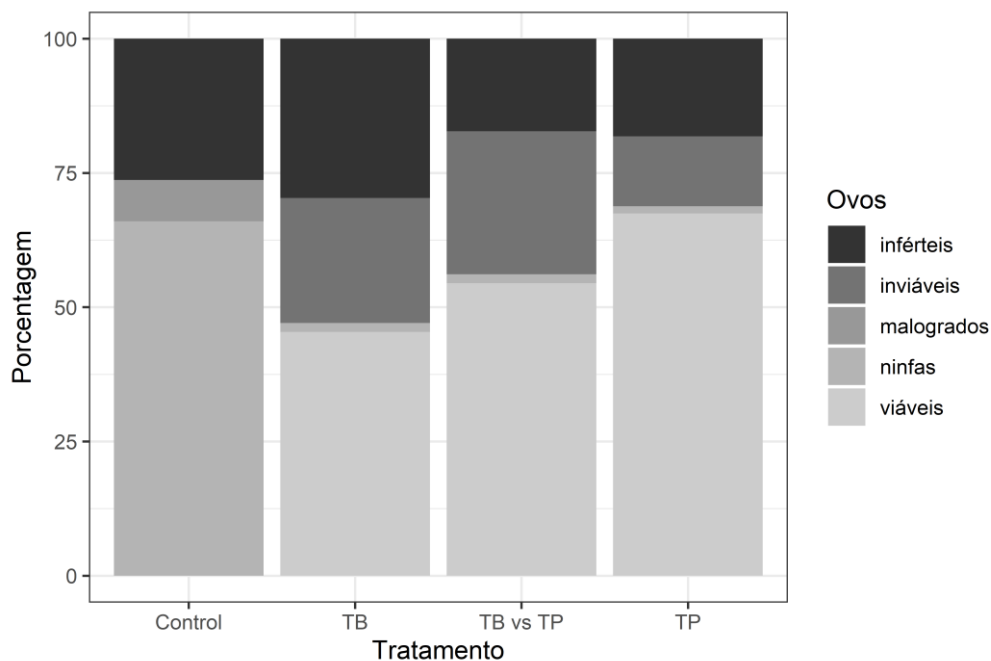


Fig.11. Porcentagem de ovos parasitados viáveis, ovos parasitados inviáveis, ovos com eclosão de ninfas de *Euschistus heros* e ovos malogrados ao final do parasitismo nos cenários experimentais para competição intraespecífica (TB: TB vs TB, TP: TP vs TP), competição interespecífica (TB vs TP) e grupo controle.

O tipo de cenário (TP vs TP; TB vs TB ou TB vs TP) e os blocos experimentais influenciaram as taxas de parasitismo de ovos de *E. heros* ($F_{2,40}=3.45$, $p<0.05$ e $F_{2,42}=10.15$, $p<0.05$, respectivamente). De maneira geral, a quantidade de ovos parasitados nas arenas experimentais nas quais somente havia fêmeas de *T. podisi* (TP vs TP) ou *T. podisi* e *T. basalis* juntas (TB vs TP) foram maiores em relação a arena que havia somente fêmeas de *T. basalis* (TB vs TB) (Tab.1).

As taxas de emergência dos parasitoides em ovos de *E. heros* também variou com o cenário nos diferentes blocos experimentais ($F_{2,40}=7.67$, $p<0.05$ e $F_{2,42}=3.77$ $p<0.05$, respectivamente). A viabilidade dos ovos parasitados foi maior quando somente fêmeas de *T. podisi* (TP vs TP) estavam presentes. Nas arenas experimentais nas quais estavam presentes as duas espécies parasitoides (TB vs TP) ou somente *T. basalis* (TB vs TB), a taxa de emergência de parasitoides foi menor e houve diferença significativa em relação a arena com apenas *T. podisi*. (Tab. 1).

A presença da outra espécie durante o forrageio das fêmeas parasitoides por ovos do hospedeiro teve efeito sobre a taxa de emergência de *T. basalis* ($F_{1,26}=18.77$, $p<0.05$). Também foi observado o efeito dos blocos experimentais sobre a viabilidade da espécie sobre os ovos de *E. heros* ($F_{2,27}=16.81$ $p<0.05$). A taxa de emergência média da prole da espécie quando presente somente conspecíficos foi maior e diferiu significativamente da taxa de emergência da prole quando houve competição entre as espécies pelos ovos do hospedeiro (Tab. 2).

A presença de *T. basalis* e o bloco experimental tiveram efeito interativo sobre o sucesso reprodutivo de *T. podisi* sobre os ovos de *E. heros* (espécie presente: $F_{1,26}=92.98$, $p<0.05$; bloco: $F_{2,27}=3.65$ $p<0.05$ e espécie presente \times bloco: $F_{2,24}=11.52$, $p<0.05$). Em geral, a taxa de emergência média da prole da espécie nas arenas experimentais em que havia somente conspecíficos também foi significativamente maior comparada a taxa de emergência encontrada nas arenas nas quais houve competição com *T. basalis* por ovos do hospedeiro. (Tab. 2).

Tab.1. Porcentagem das taxas de parasitismo e emergência dos cenários (TB vs TB, TP vs TP) e competição interespecífica (TB vs TP).

| Cenário | Taxa de parasitismo | Sobrevivência da prole |
|----------|----------------------|------------------------|
| TP vs TP | 80% ($\pm 0,03$) a | 83,9% ($\pm 0,02$) a |
| TB vs TB | 69% ($\pm 0,06$) b | 59% ($\pm 0,07$) b |
| TB vs TP | 83% ($\pm 0,05$) a | 66,2% ($\pm 0,05$) b |

Letras diferentes indicam diferença estatística na comparação entre a viabilidade da prole dentro de cada espécie (linha) ($p<0.05$)

Tab.2. Porcentagem de emergência nos cenários de competição conspecífica (TB vs TB, TP vs TP) e no cenário de competição interespecífica (TB vs TP).

| Espécie | Emergência (competição intraespecífica) | Emergência (competição interespecífica) |
|---------|---|---|
| TB | 59% ($\pm 0,07$) a | 36% ($\pm 0,07$) b |
| TP | 83% ($\pm 0,02$) a | 28% ($\pm 0,07$) b |

Letras diferentes indicam diferença estatística na comparação das taxas de parasitismo e sobrevivência entre os diferentes cenários (coluna) ($p < 0.05$)

No cenário de competição interespecífica (TB vs TP), foi constatado o efeito dos blocos experimentais sobre as taxas de parasitismo de cada espécie ($F_{2,12}=19.48$, $p < 0.05$). Dentre os ovos parasitados nestas arenas experimentais, 61% correspondeu a *T. basalis* e 39% a *T. podisi*.

O tipo de competição e os blocos experimentais não influenciaram a razão sexual (número de fêmeas/número de machos) da prole dos parasitoides ($F_{2,39}=0.547$, $p > 0.05$ e $F_{2,41}=0.585$ $p > 0.05$, respectivamente). Em média, a porcentagem de fêmeas na prole foi 88.8%, 92.6% e 93.1% nas arenas de interação TB vs TP, TP vs TP e TB vs TB, respectivamente.

3.1 Padrão de Emergência

Os padrões de emergência (parasitoides/dia) da prole proveniente dos ovos de *E. heros* parasitados nos cenários de interações foram analisadas. A análise considerou dois importantes fatores, o sucesso reprodutivo, dado pelo tamanho da prole (ovos parasitados viáveis) e o período no qual a prole se desenvolveu no interior dos ovos até a emergência dos adultos.

De maneira geral, o período para a emergência dos parasitoides nos cenários de competição intra e interespecífica ocorreu dentro de 20 dias após a ocorrência do parasitismo, entretanto, a análise apontou que o padrão de emergência ao longo do tempo variou de acordo com as espécies nos diferentes cenários de interação ($\chi^2=18,82$, $gl=2$, $p < 0,05$).

No cenário em que havia somente a espécie *T. basalis* (TB vs TB - competição intraespecífica) o período de emergência foi mais curto comparado aos demais (Fig.12). No final da segunda semana após o parasitismo (15^o dia) mais de 50% da prole já havia emergido, indicando que o tempo de desenvolvimento da fase imatura da espécie se deu em período mais curto. Em contrapartida, como já mostrado anteriormente, a taxa de sucesso reprodutivo da espécie foi menor se comparada aos demais cenários de interação.

Os padrões de emergência dos parasitoides nos cenários TP vs TP e TB vs TP foram semelhantes na segunda semana após o parasitismo (8^o ao 15^o dia). No entanto, diferente do

cenário onde só havia fêmeas TB, a maior parte dos parasitoides emergiram na terceira semana após o parasitismo (16^o. ao 22^o. dia). A partir da terceira semana, no cenário onde havia apenas fêmeas de *T. podisi* (TP vs TP) o tamanho da prole foi maior e a emergência total da prole dos parasitoides ocorreu em menor período comparado ao cenário TB vs TP. O padrão de emergência para o cenário TB vs TP apresentou tamanho de prole e tempo de emergência intermediários quando comparada aos demais cenários, TB vs TB e TP vs TP.

O padrão de emergência para o cenário TB vs TP (competição interespecífica) considerou o total de parasitoides emergidos, não havendo distinção entre as espécies. Sendo assim, para poder avaliar o período de emergência da prole das duas espécies após a competição interespecífica, foi feita também a análise considerando apenas a quantidade de ovos parasitados viáveis neste cenário.

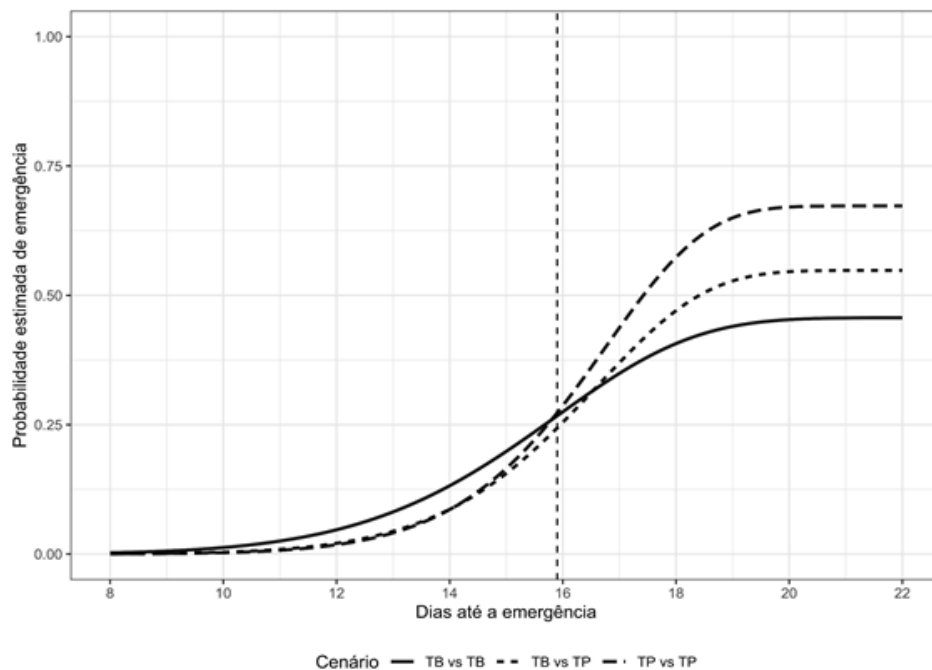


Figura 12: Padrão de emergência (probabilidade cumulativa) da prole de *Trissolcus basalis* e *Telenomus podisi* em função do tempo (dias), para os cenários de competição intraespecífica: *T. basalis* (TB vs TB- linha sólida) e *T. podisi* (TP vs TP- linha tracejada) e competição interespecífica *T. basalis* × *T. podisi* (TB vs TB – linha pontilhada).

A análise dentro do cenário em que as fêmeas das duas espécies competiam por ovos (TB vs TP), mostrou que o tempo emergência da prole variou entre as espécies ($\chi^2 = 192,75$, $gl=2$, $p < 0,05$). A prole de *T. basalis* continuou apresentando menor período de tempo para a emergência e menor viabilidade comparado à prole de *T. podisi*. A emergência teve início por volta do 10^o dia, enquanto a emergência da espécie *T. podisi* tem início por volta do 12^o dia.

Portanto, a competição interespecífica entre as fêmeas parentais não influenciou o tempo de emergência da prole sobrevivente (Fig.13).

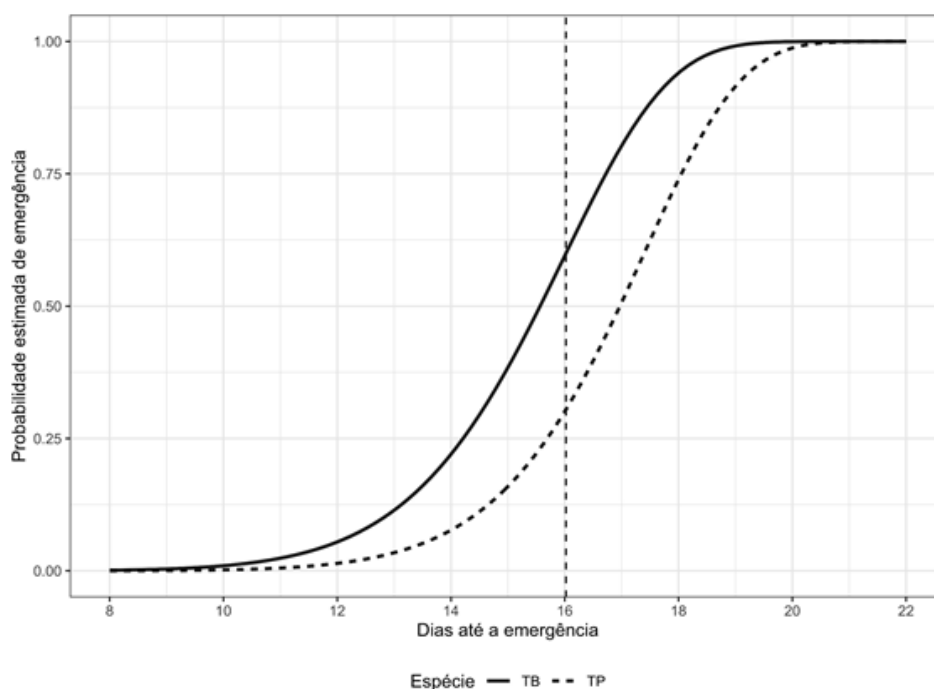


Figura 13: Padrão de emergência (probabilidade cumulativa) da prole em função do tempo (dias) para os cenários de competição interespecífica: entre as espécies *T. basalis* (TB - linha sólida) e; *T. podisi* (TP linha pontilhada).

4 Discussão

Neste estudo ficou evidenciado o maior potencial de parasitismo sobre ovos de *E. heros* de *T. podisi* em comparação ao potencial de parasitismo de *T. basalis*. Esta diferença também já havia sido relatada em estudos anteriores, os quais mostraram que *T. podisi* apresenta forte interação, alta capacidade reprodutiva e ótimo desenvolvimento em ovos do percevejo-marrom, *E. heros* (Corrêa-Ferreira e Moscardi, 1994; Medeiros et al., 1997; Pacheco e Corrêa-Ferreira 1998; Corrêa-Ferreira e Panizzi 1999; Sujii et al., 2002).

Na competição interespecífica, as taxas de parasitismo total nas arenas experimentais foram superiores a 80%. Neste caso, o parasitismo conjunto das espécies apresentou melhores resultados quando comparadas à situação na qual somente *T. basalis* estava presente. Na competição interespecífica, *T. basalis* parasitou maior número de ovos, indicando que as fêmeas da espécie possuem maior habilidade em encontrar hospedeiros, comparada a *T. podisi*. Entretanto, a viabilidade dos ovos e as taxas de emergência de ambas as espécies parasitoides

na competição interespecífica indicaram a ocorrência de multiparasitismo, resultando em baixa taxa de sobrevivência da prole na competição intra-ovo.

A presença de fêmeas de outra espécie durante o forrageio pode intensificar o parasitismo, aumentando a frequência de oviposições das espécies e, conseqüentemente, levar a ocorrência de multiparasitismo (Vankosky e Hoddle, 2017). Neste contexto, a competição entre duas espécies pode resultar em nenhum ganhador quando, por exemplo, a espécie que exibe melhor desempenho em encontrar o hospedeiro tem baixa capacidade em explorá-lo (Eitam et al., 2004; Cabello et al., 2011). Estudos mostram que fêmeas do gênero *Trissolcus* tipicamente apresentam comportamento agressivo contra conspecíficos ou fêmeas de outras espécies quando encontram ovos de hospedeiros susceptíveis ao parasitismo (Safavi, 1968; Field, 1998; Wajnberg et al., 2004; Cusumano et al., 2010). Embora não avaliado, o relato deste comportamento agressivo pode explicar a redução das taxas de parasitismo de ovos por *T. podisi* nas arenas que *T. basalis* estava presente.

As maiores taxas de parasitismo de *T. basalis* sobre ovos de *E. heros* na presença de *T. podisi*, não garantiram maior sucesso reprodutivo para a espécie. A baixa viabilidade da prole de *T. basalis* em ovos de *E. heros* tanto na presença quanto na ausência de *T. podisi* sugere que a prole da espécie é pouco eficiente em explorar os ovos de *E. heros*. A ocorrência de parasitismo inviável para a espécie foi alta mesmo quando havia somente fêmeas da espécie nas arenas experimentais, indicando que além dos efeitos do multiparasitismo, o superparasitismo e possível má adaptação ao hospedeiro também podem ter influenciado o sucesso reprodutivo da espécie, reduzindo a viabilidade da prole.

A ocorrência do superparasitismo em *T. basalis* devido a pressão de parasitismo já foi relatada em condições laboratoriais (Thomas Jr., 1972). Sendo assim, o superparasitismo pode ter contribuído para a alta mortalidade observada na prole de *T. basalis*, uma vez que as fêmeas perdem a capacidade de discriminar ovos já parasitados por conspecíficos na situação em que ocorre o ataque simultâneo de mais de uma fêmea de *T. basalis* numa mesma postura de ovos (Thomas Jr., 1972). Como resultado, o maior número de ovos parasitados por *T. basalis*, a baixa viabilidade de sua prole e a presença de fêmeas de *T. podisi* nas arenas experimentais levaram à redução das taxas de emergência total no cenário de competição interespecífica.

O multiparasitismo é o principal fator de mortalidade de prole quando há competição por hospedeiro entre diferentes espécies. Estudos que observaram ocorrência de multiparasitismo em interações interespecíficas envolvendo *T. basalis* e/ou *T. podisi* relatam a baixa taxa de emergência de prole das espécies (Cusumano et al., 2010; Cingolani et al., 2013). A ocorrência de multiparasitismo é influenciada pela capacidade das espécies em discriminar

marcações deixadas por outras espécies após o parasitismo. Sendo assim, não só a presença de outras espécies no local, mas também o comportamento de reconhecimento e seleção do hospedeiro, que precedem a oviposição podem influenciar as taxas de parasitismo (Vinson, 1984; Vinson, 1985, Bin et. Al 1993).

Neste estudo, *T. podisi* apresentou melhor desempenho reprodutivo, indicando que seu uso pode ser viável para o controle biológico clássico, por reduzir a população de *E. heros* e garantir o sucesso das futuras proles na cultura da soja. Embora a combinação de *T. podisi* e *T. basalis* em conjunto tem sido usado para controle dos percevejos como *N. viridula* e *E. heros* (Corrêa-Ferreira, 2002; Simonato et al, 2014), este estudo mostrou que a presença simultânea de fêmeas das duas espécies parasitoides pode prejudicar a persistência, a longo prazo, dos parasitoides no campo, uma vez que as taxas de emergência da prole é reduzida, levando à necessidade de maior frequência de liberações para o controle da praga ao longo do ciclo da planta. Em contrapartida, o uso de liberações simultâneas das espécies pode ser eficaz para o controle inundativo (aplicado) imediato, visando o controle da população de *E. heros* em um curto período. De modo geral, os resultados encontrados mostraram que a efetividade do controle biológico e manutenção dos inimigos naturais no campo pode variar na presença de diferentes espécies parasitoides. Sendo assim, observações em campo, visando entender como o comportamento e interações dessas espécies se fazem necessárias para que a estratégia de controle esperada seja alcançada.

REFERÊNCIAS

Begon, M., Townsend, C. R., Harper, J. L., 2006. Ecology: From Individuals to Ecosystems. 4. ed. Malden: Blackwell Publishing. p. 46.

Bin, F., Vinson, S.B., Strand, M.R., Colazza, S., Jones, W.A., 1993. Source of an egg kairomone for *Trissolcus basalis* a parasitoid of *Nezara viridula*. *Physiological Entomology*, v. 18, p. 7-15.

Bueno, A. F., Sosa-Gómez, D. R., Corrêa-Ferreira, B. S., Moscardi, F., Bueno, R. C. O. F., 2012. Inimigos naturais das pragas da soja. In: Hoffmann-Campo, C. B., Corrêa-Ferreira, B. S., Moscardi, F. (Eds.), Soja: manejo integrado de insetos e outros Artrópodes-praga. Brasília, DF: Embrapa, p. 493-630.

Cabello, T., Gamez, M., Torres, A., Garay, J., 2011. Possible effects of inter-specific competition on the coexistence of two parasitoid species: *Trichogramma brassicae* and *Chelonus oculator* (Hym.: Trichogrammatidae, Braconidae). *Commun. Ecol.* 12, p. 78-88. <https://doi.org/10.1556/comec.12.2011.1.10>

Cingolani, M. F., Greco, N. M., Liljeström, G. G., 2013. Multiparasitism of *Piezodorus guildinii* eggs by *Telenomus podisi* and *Trissolcus urichi*. *BioControl* p. 58, 37–44. <https://doi.org/10.1007/s10526-012-9484-9>

Conab., 2021. <https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/3788-colheita-de-soja-tem-inicio-e-producao-deve-atingir-133-7-milhoes-de-toneladas>

Corrêa-Ferreira, B. S. *Trissolcus basalis* para o controle de percevejos da soja. In: Parra, J. R. P., Botelho, P. S. M.; Corrêa-Ferreira, B.S.; Bento, J. M., 2002. Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores. São Paulo: Manole, 2002. p. 449-476.

Corrêa-Ferreira, B. S., 1991. Parasitóide de ovos: incidência natural, biologia e efeito sobre a população de percevejos da soja. Curitiba. Tese de doutorado. Universidade Federal do Paraná, p. 229.

Corrêa-Ferreira, B. S., 1993. Utilização do parasitóide de ovos *Trissolcus basalis* (Wollaston) no controle de percevejos da soja. Londrina: Embrapa CNPSo., (Embrapa-CNPSo. Circular Técnica, 11). <https://core.ac.uk/download/pdf/15439609.pdf>

Corrêa-Ferreira, B. S., Zamataro, C. E. O., 1989. Capacidade reprodutiva e longevidade dos parasitóides de ovos *Trissolcus basalis* (Wollaston) e *Trissolcus mitsukurii* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae). *Rev. Bras. Biol.* 49, p. 621-626.

Corrêa-Ferreira, B. S., Panizzi, A. R., 1999. Percevejos da soja e seu manejo. Circular Técnica 24. Londrina, Embrapa Soja, p. 45.

Corrêa-Ferreira, B. S., Moscardi, F., 1994. Temperature effect on the biology and reproductive performance of the egg parasitoid *Trissolcus basalis* (Woll.). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v. 23, p. 399-408.

Cusumano, A., Peri, E., Vinson, S. B., Colazza, S., 2010. Intraguild interactions between two egg parasitoids exploring host patches. *BioControl* 56, p. 173-184. <https://doi.org/10.1007/s10526-010-9320-z>

Cusumano, A., Peri E., S Colazza, S., 2016. Interspecific competition/facilitation among insect parasitoids. *Insect Science*, v. 14, p. 12-16.

De Bach, P., 1966. The competitive displacement and coexistence principles. *Annates de la Revue de Entomologie*. 2, p. 183-212.

Durant, S. M., 1998. Competition refuges and coexistence: an example from Serengeti carnivores. *J. Anim. Ecol.* 67, p. 370–386. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2656.1998.00202.x>

Eitam, A., Sivinski, J., Holler, T., Aluja, M., 2004. Biogeography of braconid parasitoids of the Caribbean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in Florida. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 97, p. 928-939. [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2004\)097\[0928:BOBPOT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2004)097[0928:BOBPOT]2.0.CO;2)

Embrapa., 2020. Conceitos de MIP: módulo 02. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/caravana/pdfs/modulo2.pdf>>

Field, S. A., Keller, M. A., and Austin, A. D., 1998. Field ecology and behaviour of the egg parasitoid *Trissolcus basalis* (Wollaston) (Hymenoptera: Scelionidae). *Trans. Roy. Soc. S.A.* 122: p. 65–71.

García-Medel, D., Sivinsky, J., Días-Fleischer, F., Ramirez-Romero, R., Aluja, M., 2007. Foraging Behavior by Six Fruit Fly Parasitoids (Hymenoptera: Braconidae) Released as Single- or Multiple-species Cohorts in Field Cages: Influence of Fruit Location and Host Density. *Biological Control*, v. 43, p. 12-22.

Hardin, G., 1960. The competitive exclusion principle. *Science*, 131, p. 1292–1298.

Medeiros, M. A., Schimidt, F. V. G, Loiacono, M. S, Carvalho, V. F e Borges, M., 1997. Parasitismo e predação em ovos de *Euschistus heros* (Fab.) (Heteroptera: Pentatomidae) no Distrito Federal, Brasil. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil 26(2): p. 397-401.

Mello Filho, O. L., Sedyama, C. S., Moreira, M. A., Reis, M. S., Massoni, G. A., Piovesan, N. D., 2004. Grain yield and seed quality of soybean selected for high protein content. Pesq. Agropec. Bras., v. 39, n. 5, p. 445-450.

Mendoza, A. C., Aline, C. P. da Rocha., Parra, J. R. P., 2016. Lyophilized artificial diet for rearing the Neotropical *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae), J. Insect Sci. 16, p. 41. <https://doi.org/10.1093/jisesa/iew025>

Mohamad, R., Wajnberg, E., Monge, J. P., Goubault, M., 2015. The effect of direct interspecific competition on patch exploitation strategies in parasitoid wasps. Oecologia, 177: p. 305-315. First study to address patch time allocation in fighting species under conditions of direct interspecific competition

Moral, R., Hinde, J., Demétrio, C., 2017. Half-normal and overdispersed models in r: The hnp package. Journal of Statistical Software, Articles 81, p. 1-23. <https://www.jstatsoft.org/article/view/v081i10>

Moreira, G. R. P., M. Becker., 1986. Mortalidade de *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758) (Heteroptera: Pentatomidae) no estágio de ovo na cultura da soja: todas as causas de mortalidade. An. Soc. Entomol. Brasil 15, p. 271-290.

Murdoch, M. M., Briggs, C. J., Collier, T. R., 1998. Biological Control In Insect, Implications For The Theory In Population Ecology. In Dempster, J. P., Mclean, I.F.G. (Eds.). Insect Populations In Theory And Practice. p. 167-186. Kluwer Academic. Dordrecht.

Pacheco, D. J. P., Corrêa-Ferreira, B. S., 1998. Potencial reprodutivo e longevidade do parasitóide *Telenomus podisi* Ashmead, em ovos de diferentes espécies de percevejos. An. Soc. Entomol. Brasil 27, p. 585-591.

Powell, J. E., Shepard, M., 1982. Biology of Australian and United States strains of *Trissolcus basalis*, a parasitoid of the green vegetable bug, *Nezara viridula* Australian J. Ecol. 7, p. 181- 186. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.1982.tb01591.x>

Ramirez, P. T., Chiva, L., Eriksson, A. G. Z., 2020. COVID-19 global pandemic oncology: options for management of gynecologic cancers. Int J Gynecol Cancer 30, p. 561–563. <http://dx.doi.org/10.1136/ijgc-2020-001419>

Safavi, M., 1968. Etude biologique et écologique des Hyménoptères parasites des oeufs des punaises des céréales. Entomophaga 13, p. 381-495. <https://zenodo.org/record/23845#.X5WCfYhKiM8>

Sales, F. M., 1979. Responsiveness and threshold for host seeking stimulation of the female *Trissolcus basalis* (Wollaston) by the eggs of the host *Nezara viridula* (L.). Fitossanidade, Fortaleza, v. 3, p. 36-39, 1979

Schoener, T. W., 1974. Resource partitioning in ecological communities. Science 185, p. 27–39. <http://www.jstor.org/stable/1738612>

Simonato, J., Grigolli, J. F., Harley, N., 2014. Controle biológico de insetos-praga na soja. Embrapa Agropecuária Oeste-Capítulo em livro científico (ALICE).

Sujii, E. R., Costa, M. L. M., Pires, C. S. S., Colazza, S. e Borges, M., 2002. Inter and intra-guild interactions in egg parasitoid species of the soybean stink bug complex. Pesquisa Agropecuaria de Brasília 37(11): p. 1541-1549.

Thomas, J. W., Jr., 1972. Evaluation of *Trissolcus basalis* (Wollaston) as an Egg Parasite of *Nezara viridula* (Linnaeus), Unpublished M.Sc. thesis, Louisiana State University, Baton Rouge.

Vankosky, M. A., Hoddle, M. S., 2017. An assessment of interspecific competition between two introduced parasitoids of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) on caged citrus plants. Insect Science. 26, p. 119–127. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12490>

Vinson, S. B., 1984. Parasitoid-host relationship. *Chem. Ecol. Insects* (ed. by W. J. Bell and R. T. Carde), Chapman and Hall, New York. p. 205-233.

Vinson, S.B., 1985. The behavior of parasitoids. *Comprehensive Insect Physiology Biochemistry and Pharmacology* (ed. By G. A. Kerkut and L. I. Gilbert), Pergamon Press, New York. 9, p. 417-469.

Wajnberg, E., Curty, C., Colazza, S., 2004. Genetic variation in the mechanisms of direct mutual interference in a parasitic wasp: consequences in terms of patch-time allocation. *J Anim Ecol* 73, p. 1179–1189. <https://doi.org/10.1111/j.0021-8790.2004.00892.x>

Weber, C. A., Janet, M. S., Ehlerand, L. E., Zalom, F. G., 1996. Ovipositional behavior and host discrimination in three scelionid egg parasitoids of stink bugs. *Biological Control*, San Diego, v. 6, p. 245-252.

Wharton, R. A., 1989. Classical biological control of fruit Tephritidae. In: Robinson, A., Harper, G. (org.). *World Crop Pests, Fruit flies: Their Biology, Natural Enemies, and Control*. vol. 3b. Elsevier Science, Amsterdam, p. 303–313.

CAPÍTULO 2 – Exploração sequencial de parasitoides: Efeitos da competição intra e interespecífica entre *Telenomus podisi* e *Trissolcus basal* em ovos de *Euschistus heros*

Resumo

As espécies parasitoides *Trissolcus basal* e *Telenomus podisi* são microvespas muito utilizadas para o controle do percevejo *Euschistus heros*, considerado a principal e mais abundante praga da soja. A expansão e as diferentes formas de manejo aplicados à cultura de soja podem intensificar os encontros das duas espécies nas culturas, levando a interações competitivas durante o parasitismo dos ovos do hospedeiro no campo. Tais competições podem ocorrer tanto entre as fêmeas adultas no momento de forrageio como também na fase larval, no interior do ovo, durante o parasitismo sequencial dos ovos do percevejo-marrom. Este estudo teve como objetivo analisar e avaliar os efeitos da complexidade de interações que podem surgir na competição indireta por ovos de *E. heros*. Os efeitos das interações intra e interespecíficas na exploração sequencial das espécies parasitoides sobre ovos de *E. heros*, quando as fêmeas parasitoides tinham disponíveis simultaneamente, por 24h, três grupos de ovos: sadios (não parasitados), parasitados por *T. podisi* e parasitados por *T. basal*; foram analisados em três cenários experimentais (i) uma fêmea de *T. basal* (ii) uma fêmea *T. podisi* e (iii) uma fêmea de *T. basal* e uma fêmea de *T. podisi*. Adicionalmente, um segundo experimento foi realizado, para os mesmos cenários experimentais discutidos, com o objetivo de observar e quantificar os eventos comportamentais (tamborilar, ovipositar, marcar) no momento do parasitismo, e verificar a ocorrência de super e/ou multiparasitismo em cada cenário experimental. Na exploração sequencial de parasitoides, *T. podisi* apresentou maiores taxas de parasitismo e número de oviposição em ovos sadios e em ovos previamente por *T. basal*, levando a redução da viabilidade da prole de *T. basal*. *Trissolcus basal* parasitou ovos sadios e ovos previamente parasitados por *T. podisi* e por conspecífico. *Telenomus podisi* mostrou maior eficiência do que *T. basal* na capacidade de discriminar ovos previamente parasitados por conspecíficos, evitando o superparasitismo. Em todos os cenários, a prole advinda do parasitismo prévio teve maior sucesso comparada à prole advinda do parasitismo sequencial. As interações competitivas intra-ovo resultaram no aumento das taxas de mortalidade e alterações no padrão de emergência da prole causadas pelo multiparasitismo. Os resultados indicam que o parasitismo sequencial pode alterar a sincronia entre o período em que a prole do parasitoide emerge e o período em que o estágio susceptível do hospedeiro está disponível, impactando de maneira direta a efetividade do controle da praga a longo prazo.

Palavras chave: controle biológico, padrão de emergência, competição larval, multiparasitismo, superparasitismo.

Sequential exploration of parasitoids: Effects of intra and interspecific competition between *Telenomus podisi* and *Trissolcus basal* females by *Euschistus heros* eggs

Abstract

The parasitoid species *Trissolcus basal* and *Telenomus podisi* are widely used as biological control agents of brown stinkbug, *Euschistus heros*. Different techniques of management applied and the expansion of soybean crops have intensified the encounters of these parasitoids species at field, leading to competitive interactions during parasitism of host eggs. In the sequential exploration of parasitoids, the competition interaction can occur among adult females during foraging by hosts and also after females oviposition, in the larval stage inside of eggs. This study aimed to analyze and to evaluate the effects of interaction complexities that arise in indirect parasitoids competition for *E. heros* eggs. The effects of intra- and interspecific interactions on the sequential exploration of parasitoids, in which parasitoid females had available simultaneously, for 24h, three groups of eggs: healthy (not parasitized) eggs, parasitized eggs by *T. podisi* and parasitized eggs by *T. basal*; were analyzed in three experimental scenarios: (i) one *T. basal* female (ii) one *T. podisi* female and (iii) one *T. basal* and one *T. podisi* females. Additionally, a second experiment was performed, for the same experimental scenarios, in order to observe and to quantify behavioral events (drumming, ovipositing, marking) during parasitism, allowing to verify the occurrence of super and/or multiparasitism at experimental scenarios. In sequential exploration of parasitoids, *T. podisi* showed higher parasitism rates and oviposition rates on healthy eggs and on eggs previously by *T. basal*, reducing the *T. basal* offspring viability. *Trissolcus basal* parasitized healthy eggs and eggs previously parasitized by *T. podisi* and by conspecifics. *Telenomus podisi* showed higher ability to discriminate between eggs previously parasitized by conspecifics, avoiding superparasitism. In all scenarios, offspring come from previous parasitism were successful compared to the offspring come from sequential parasitism. Competitive interactions inside the host eggs increased parasitoid mortality rates and lead to changes in the offspring emergence patterns, due to multiparasitism. The results indicate that sequential exploration of parasitoids can alter the synchrony between the period in which parasitoid offspring emerge and the period in which the susceptible host stage is available, causing direct impact on the long-term pest control effectiveness.

Key words: biological control, emergence pattern, larval competition, multiparasitism, superparasitism.

1 Introdução

Atualmente, a soja é a principal cultura cultivada no Brasil e, segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (Conab), ela representa 50% do total de grãos produzidos no país e deve registrar um aumento de 7,9 milhões de toneladas na safra 2020/2021, se comparada com a safra de 2019/2020, produzindo, aproximadamente 130 milhões de toneladas (Conab, 2021). A alta produtividade da soja, entretanto, é constantemente ameaçada por diferentes espécies de pragas, que podem estar presente na cultura desde o plantio até a sua colheita. Dentre os insetos que causam prejuízos a produção de soja, os percevejos fitófagos (Hemiptera: Pentatomidae) se destacam como principal grupo de pragas da soja (Corrêa-Ferreira e Panizzi, 1999). Dentre estas pragas, o percevejo marrom, *Euschistus heros* (Fabricius, 1974) é considerado o principal pentatomídeo praga da soja, causando grande dano econômico à cultura no Brasil (Corrêa-Ferreira et al, 2009; Panizzi 2012).

Os parasitoides de ovos *Telenomus podisi* e *Trissolcus basalis* (Hymenoptera: Scelionidae) são importantes inimigos naturais usados em programas de controle biológico de diferentes espécies de percevejos praga da soja (Bueno et al., 2012). Estas espécies parasitoides são consideradas generalistas por atacarem diversos tipos de hospedeiros, dentre eles, os ovos do percevejo-marrom *E. heros* (Sales, 1979; Corrêa-Ferreira, 1991).

A expansão do cultivo de soja no Brasil, o clima propício e o manejo dessas culturas têm favorecido a distribuição e permanência das populações de *E. heros*. A espécie passou a ser considerado a principal praga da soja, lugar antes ocupado pelo percevejo-verde *Nezara viridula*. Consequentemente, com a abundância e ampliação territorial das populações de *E. heros*, a espécie parasitoide *T. basalis*, que tinha como hospedeiro preferencial o percevejo verde *N. viridula*, passou a parasitar ovos de *E. heros*, ocasionando uma sobreposição de nichos com a espécie *T. podisi* que tem como hospedeiro preferencial o *E. heros* (Corrêa-Ferreira, 1993; Corrêa-Ferreira e Panizzi, 1999).

O uso de *T. podisi* e *T. basalis* como agentes de controle biológico de percevejos da soja tem se dado através de liberações massais destes parasitoides nos campos. Em algumas regiões, as duas espécies também podem ser encontradas de forma natural nas culturas. Em ambas situações, interações competitivas entre as espécies podem ser frequentes durante o forrageio por hospedeiros, trazendo consequências para o controle da praga e para a manutenção desses inimigos naturais no agrossistema da soja (Corrêa-Ferreira., 1993; Corrêa-Ferreira e Moscardi., 1995, Cusumano et al., 2016).

A competição entre parasitoides pode ocorrer de maneira direta, quando duas fêmeas adultas estão presentes simultaneamente no local e disputam pelos hospedeiros presentes (Cusumano et al., 2016) ou de maneira indireta, quando uma fêmea parasita um hospedeiro que foi explorado previamente por outra fêmea (parasitismo sequencial). Nesse último caso, a competição pelo recurso ocorre no interior do hospedeiro (competição larval) (Brodeur e Boivin, 2006; Cusumano et al., 2016) e pode ser percebida e avaliada pelas diferenças nas taxas de desenvolvimento da prole, uma vez que o fitness da espécie e o desenvolvimento da prole podem ser prejudicados devido as alterações quantitativas e qualitativas dos recursos do hospedeiro que ocorrem devido a competição larval (Harvey et al., 2009; Cusumano et al., 2015).

As interações competitivas entre parasitoides solitários, podem ocorrer entre conspecificos (mesma espécie) ou entre espécies diferentes, resultando no superparasitismo e multiparasitismo, respectivamente (Godfray, 1994; Couchoux e van Nouhuys, 2014). Em geral, em espécies de parasitoides solitários, como no caso de *T. basalis* e *T. podisi*, apenas um indivíduo pode se desenvolver no hospedeiro e as larvas concorrentes acabam sendo eliminadas normalmente no primeiro instar larval (Brodeur e Boivin, 2006) geralmente por ataque físico ou supressão fisiológica (Cusumano et al, 2012; Godfray, 1994).

A competição por hospedeiros pode ser reduzida quando as fêmeas parasitoides são capazes de discriminar hospedeiros já parasitados e não parasitados. Esta capacidade de discriminação das condições dos hospedeiros é mais frequente em nível intraespecífico (Godfray, 1994). A identificação de hospedeiros previamente parasitados se dá por pistas químicas e físicas (semioquímicos e infoquímicos) (Godfray, 1994), de maneira a evitar a ocorrência do multiparasitismo ou superparasitismo, que afetam de maneira direta a qualidade e quantidade dos recursos da prole, podendo levar à morte as larvas dos parasitoides em desenvolvimento (Harvey et al, 2013).

O conhecimento dos efeitos advindos da competição entre parasitoides deve ser levado em consideração na definição das estratégias para o uso destes agentes em programas de controle biológico de pragas (Nechols et al., 1992; Follet et al., 2000). Dessa forma, entender e conhecer os aspectos biológicos, comportamentais e também a biodiversidade e distribuição das espécies parasitoides num determinado local tornam-se relevantes para a obtenção do sucesso dos programas de Controle Biológico (Wharton, 1989; Correa-Ferreira, 1993).

Este estudo teve como objetivos quantificar e analisar os efeitos da competição indireta (larval no interior do ovo) entre *T. podisi* e *T. basalis* quando as fêmeas parasitoides tinham disponíveis, simultaneamente em arenas experimentais, ovos de *E. heros* em diferentes

condições: ovos previamente parasitados por conspecíficos, ovos previamente parasitados pela outra espécie parasitoide e ovos não parasitados (sadios).

Os resultados obtidos mostraram que *T. podisi* é mais eficiente em reconhecer ovos previamente parasitados pela sua própria espécie, preferindo ovipositar em ovos sadios ou em ovos previamente parasitados pela espécie concorrente *T. basalis*. Além disso, a viabilidade da prole de *T. podisi* foi pouco afetada após o parasitismo sequencial de *T. basalis*. A viabilidade da prole de *T. basalis*, entretanto, foi bastante reduzida quando ocorreu o parasitismo sequencial por *T. podisi* devido a competição larval ocasionada pelo multiparasitismo, nesse último caso a mortalidade foi alta para ambas as espécies. O parasitismo sequencial (multiparasitismo) também alterou o padrão de emergência da prole das espécies, aumentando o tempo de desenvolvimento da prole no interior do ovo dos hospedeiros. No estudo observacional, foi constatado que a baixa viabilidade do parasitismo de *T. basalis* esta relacionada a ocorrência de superparasitismo. Também foi observado que fêmeas de *T. podisi* evitaram o superparasitismo.

2 Material e Métodos

2.1. Espécies estudadas

2.1.1 Hospedeiro: *Euschistus heros*

A criação em laboratório dos percevejos se iniciou com insetos fornecidos pelo Laboratório de Biologia de Insetos, do Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ/USP. Após estabelecida, a criação de *E. heros* foi mantida em sala climatizada a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, com 12 h de fotofase e U.R. de $60 \pm 10\%$ no Laboratório de Ecologia de Interações do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva da UFSCar. Os casais de *E. heros* foram mantidos em gaiolas teladas de $24 \times 24 \times 10$ cm. Na parte superior das gaiolas foram colocadas 4 tiras de tecido de algodão (3×10 cm) que serviram como substrato para a postura de ovos. Na parte inferior da gaiola foi fornecida aos insetos, dieta a base de vagens de feijão, amendoim e algodão umedecido com água. A cada sete dias, as gaiolas eram limpas e a dieta trocada, o algodão foi umedecido com água em dias alternados. Para continuidade da criação, os ovos coletados foram colocados em pequenas placas de Petri (15×2 cm). Após a eclosão das ninfas, estas se desenvolveram nas Placas de Petri e quando alcançaram o segundo instar, foram alocadas nas gaiolas descritas acima, onde permaneceram até a fase adulta (adaptado, Mendoza, 2016).

2.1.2 Parasitoides: *Telenomus podisi* e *Trissolcus basalis*.

A criação em laboratório das espécies parasitoides se iniciou com linhagens das espécies parasitoides fornecidas pelo Laboratório de Biologia de Insetos, Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ/USP. As colônias de parasitoides obtidas foram então mantidas no Laboratório de Ecologia de Interações do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva da UFSCar. Os adultos de *T. podisi* e *T. basalis* foram mantidos separados em sacos de polietileno. No interior dos sacos foram fornecidas gotículas de mel puro para alimentação dos parasitoides. Posturas recém obtidas de *E. heros* foram fornecidas aos parasitoides em placas de Petri (15×2 cm) dentro dos sacos. Após 24 horas, as placas contendo ovos foram retirados dos sacos e foram mantidas em ambiente climatizado ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, 12 horas de fotofase e U.R de $60 \pm 10\%$) até a emergência dos parasitoides. Após a emergência, os parasitoides adultos foram liberados nos sacos de polietileno para reiniciar o novo ciclo.

2.2 Delineamento experimental

As interações se deram em arenas experimentais, representadas por placas de Petri (15×2 cm). Todos experimentos foram realizados no período entre às 14h e 18h.

Para avaliar os efeitos do parasitismo prévio sobre as taxas de parasitismo das espécies, foram disponibilizados 12 ovos de *E. heros* às fêmeas parasitoides durante 24 horas. O conjunto total de 12 ovos foi dividido em 3 grupos: 4 ovos foram previamente parasitados por fêmeas de *T. podisi*; 4 ovos parasitados por *T. basalis* e 4 ovos não parasitados (ovos sadios) (Fig. 14). O comportamento de escolha dos ovos pelas fêmeas na presença ou ausência de competidores foi analisado em três cenários experimentais: (TB) 1 fêmea de *T. basalis*, (TP) 1 fêmea de *T. podisi* e (TB vs TP) 1 fêmea de *T. basalis* + 1 fêmea de *T. podisi* (Fig. 14). As fêmeas parasitoides receberam mel *ad libitum* até o final da experimentação.

O parasitismo prévio dos ovos se deu 48h antes do experimento. Para isto, foram utilizados tubos de ensaios (2 × 8 cm) fechados com plástico filme, contendo seis ovos sadios com até 24 h de idade e uma fêmea previamente acasalada. O procedimento foi feito para ambas as espécies. Visando a padronização da idade dos grupos de ovos para as fêmeas durante a experimentação, os ovos sadios disponibilizados para as fêmeas tinham 48h de idade. Após 24h de parasitismo, as fêmeas parasitoides foram retiradas e os ovos separados e acondicionados em placas de Petri (15 × 2 cm) em câmara climática de 25±2°C, UR de 60±10% e fotofase de 14h até a eclosão de ninfas dos percevejos e/ou emergência dos parasitoides. Foram feitas dez réplicas por tratamento. Também foi feito um grupo controle, no qual os parasitoides não estavam presentes nas arenas experimentais. Após a emergência da prole, foram quantificados os parasitoides emergentes, a taxa de emergência (sucesso de parasitismo) e a razão sexual da prole em cada grupo de ovos.

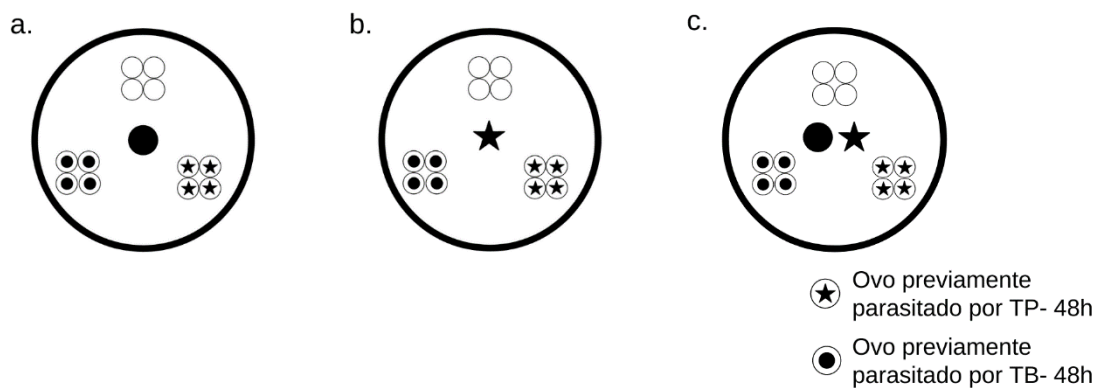


Fig. 14. Cenários experimentais para a quantificação do sucesso do parasitismo na presença de ovos de percevejo parasitados por *Trissolcus basalis*; por *Telenomus podisi* e não parasitados na ausência de competição. (a) TB; (b) TP e na presença de competidor interespecífica (c)TB vs TP.

Nos cenários experimentais estudados, foi considerado 100% de sucesso de parasitismo quando ocorreu a emergência da espécie forrageadora (*i.e.* fêmea adulta presente no experimento) nos 12 tipos de ovos oferecidos (4 ovos parasitados por TP + 4 ovos parasitados por TB + 4 ovos não parasitados). O sucesso no parasitismo sugere que a fêmea foi capaz de identificar ovos já parasitados por seus conspecíficos e parasitou somente ovos sadios e ovos parasitados pela outra espécie. Neste caso, sua prole foi capaz de se desenvolver e obter sucesso na competição (multiparasitismo) com os imaturos da outra espécie presente nos ovos.

Para avaliar se as fêmeas evitaram ovos já parasitados por conspecíficos, também foram comparados os padrões de emergência nos cenários experimentais. O parasitismo prévio se deu

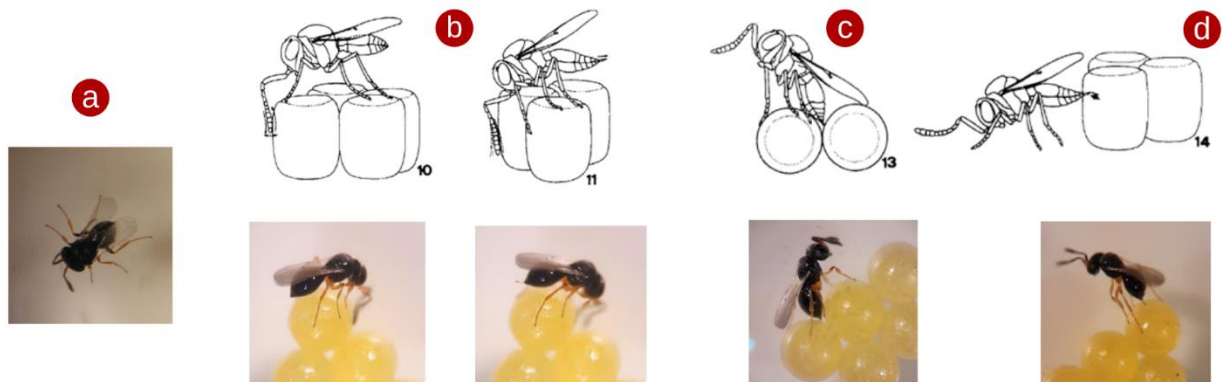
2 dias (48h) antes do início do experimento e, dessa forma, era esperado que parasitoides provenientes do primeiro parasitismo apresentassem menor janela de tempo de emergência. Para confirmar a ocorrência de superparasitismo e multiparasitismo, também foi feito um experimento observacional adicional, onde as fêmeas das duas espécies parasitoides foram observadas durante trinta e cinco minutos, possibilitando a confirmação da ocorrência de oviposição em ovos previamente parasitados pelas espécies.

2.2.1 Padrão de emergência

Para analisar e quantificar os efeitos da competição direta e indireta (interior do ovo) sobre o tempo de desenvolvimento e as taxas de emergência da prole das espécies nos diferentes cenários experimentais, a quantidade de parasitoides emergidos/dia foi contabilizada a partir da retirada das fêmeas (dia 1) até o dia da última emergência da prole. Ao longo dos dias, os parasitoides emergentes foram sexados e quantificados e em seguida foram removidos das arenas experimentais.

2.2.2 Avaliação e quantificação do comportamento de oviposição das fêmeas parasitoides durante a exploração sequencial de parasitoides

Usando os mesmos cenários e arenas experimentais acima descritos, foram feitos experimentos adicionais visando avaliar o comportamento das fêmeas parasitoides durante o parasitismo sequencial durante 35 minutos. Foram definidos e quantificados os seguintes comportamentos: a) caminhar; b) tamborilar; c) ovipositar e d) marcar (Fig. 15). Também foi avaliada a capacidade de discriminação das espécies parasitoides frente aos diferentes tipos de hospedeiros (ovos sadios e previamente parasitados por *T. podisi* e *T. basalis*) e as ocorrências de superparasitismo e multiparasitismo nos diferentes grupos de ovos. Para cada cenário experimental foram feitas 10 réplicas. Também foi feito um grupo controle, onde não houve a liberação sequencial de parasitoides.



Fonte: Autor

Figura 15: Esquema usado para a classificação de comportamentos exibidos por parasitoides durante o parasitismo (Adaptado Bin et al, 1993) e fotos de *Telenomus podisi* exibindo diferentes comportamentos descritos: a) caminhar; b) tamborilar/colocar o ovipositor para fora; c) ovipositar; d) marcar o ovo (sinalização química).

Nas observações foram quantificadas a ocorrência de parasitismo sequencial, bem como suas consequências para as taxas de emergência. A quantificação da frequência e tempo dos comportamentos em cada grupo de ovos foi feita utilizando um cronômetro. Assim, para cada comportamento específico, a frequência e o tempo foi contabilizado para cada ovo individualmente. Dessa forma, foi verificado e quantificado se o parasitismo sequencial, observado através do número de oviposições, influenciou no desenvolvimento e sucesso das proles.

2.3 Análise estatística

Modelos lineares generalizados com distribuição quasi binomiais foram ajustados aos dados de proporção (taxas de parasitismo, taxas de emergência e razão sexual), incluindo os efeitos dos cenários experimentais, blocos e a interação entre os cenários e blocos no preditor linear. A significância dos efeitos foi avaliada por meio de testes F e comparações múltiplas foram realizadas obtendo-se os intervalos de confiança de 95% para os preditores lineares. A qualidade do ajuste foi avaliada usando gráficos semi-normais com envelopes simulados (Moral et al., 2017).

Para os dados de tempo de emergência, foram ajustados modelos de taxa de cura de riscos proporcionais Weibull (Ramires et al., 2020), implementados por meio de gamlss (Rigby e Stasinopoulos, 2005). A fração "curada" representou os insetos que nunca surgiram no período de observação de 24 dias. Os efeitos do cenário experimental, do tipo de ovo e a

interação entre eles foram incluídos nos preditores lineares para a média (modelado com um log link), a variância (também modelada com um log link) e a taxa de cura (modelada com um log link). Em seguida, foi executada a seleção retroativa do modelo começando com o preditor linear para a média, depois a variância dada a média e, finalmente, a taxa de cura dada a média e a variância. Usando o modelo final selecionado, produzimos gráficos das funções de distribuição cumulativa para cada cenário experimental, que representam a probabilidade de emergência da prole ao longo do tempo.

A frequência dos diferentes comportamentos (caminhar, marcar, tamborilar e ovipositar) exibidos pelas fêmeas das espécies parasitoides durante o parasitismo sequencial foi analisada pelo teste do Qui-quadrado e através da descrição gráfica, utilizando “heatmaps”. O efeito da ocorrência de oviposição secundária sobre a viabilidade do parasitismo nos diferentes tipos de ovos após o parasitismo secundário em *T. podisi* e *T. basalis* foi analisada através de ajuste de modelos linearmente generalizados com distribuição Binomial, com correção da superdispersão. A significância do tipo de ovo sobre a taxa de emergência da prole foi avaliada por meio de testes de F. A avaliação da qualidade do ajuste obtido foi avaliada por meio do gráfico “half-normal-plot” com envelopes simulados ao nível de 95% (Moral et al., 2017). Todas as análises foram realizadas no software R (R Development Core Team, 2015).

3 Resultados

A análise mostrou que o cenário experimental (TB; TP; TB vs TP) teve efeito sobre o sucesso reprodutivo dos parasitoides ($\chi^2=123,51$; gl=9, $p<0,05$). Dentro de cada cenário, todas as comparações par a par entre os grupos de ovos apresentaram diferenças significativas. No cenário TP, *T. podisi*, emergiu de 44,15% dos ovos (1,66% em ovos TB + 20,83% em ovos TP + 21,66% em ovos sadios), enquanto *T. basalis* emergiu de somente 7,5% dos ovos. Apenas 8,32% dos ovos não foram parasitados (0,83% em ovos TB + 0,83% em ovos TP + 6,66% em ovos sadios) e a mortalidade da prole foi observada em aproximadamente 40% dos ovos (23,3% em ovos TB + 11,66% em ovos TP+ 5% em ovos sadios) (Tab. 3a). Os resultados sugerem que a prole de *T. podisi* advinda de parasitismo prévio tem maior viabilidade quando as fêmeas adultas conspecíficas estão presentes (Fig.16).

Tab.3. Média (\pm desvio padrão) e porcentagem de emergência de *T. basalis*; *T. podisi*, parasitismo inviável e ovos não parasitados ao final do parasitismo em cada grupo de ovos (TB: ovos com parasitismo prévio de *T. basalis*; TP: ovos com parasitismo prévio de *T. podisi*; np:

ovos sadios) nos cenários experimentais TB, TP, TB vs TP e Controle (sem a presença de fêmeas parasitoides).

| Resposta | | | | | | |
|-----------------|---------------|------------------------|------------------------|------------------------|---|---------------|
| Cenário | Grupo de ovos | <i>T. basalis</i> | <i>T. podisi</i> | Parasitismo inviável | Ovos não parasitados | Total |
| (a) TP | tb | 0,9 (± 0,99) 7,5% | 0,2 (± 0,42) 1,66% | 2,8 (± 0,91) 23,3% | 0,1 (± 0) 0,83% | 4 33,3% |
| | tp | 0 0% | 2,5 (± 1,35) 20,83% | 1,4 (± 1,42) 11,66% | 0,1* (± 0) 0,83% | 4 33,3% |
| | np | 0 0% | 2,6 (± 1,64) 21,66% | 0,6 (± 0,84) 5% | 0,8 (± 0,91) 6,66% | 4 33,3% |
| (b) TB | tb | 1,5 (± 0,70) 12,5% | 0 0% | 2,2 (± 0,78) 18,33% | 0,3 (± 0,48) 2,5% | 4 33,3% |
| | tp | 0,1* (± 0) 0,8% | 1,5 (± 1,35) 12,5% | 2,4 (± 1,42) 20% | 0 0% | 4 33,3% |
| | np | 1,6 (± 1,17) 13,3% | 0 0% | 1,7 (± 0,94) 14,6% | 0,7 (± 0,94) 5,83% | 4 33,3% |
| (c) TB vs TP | tb | 1,1 (± 1,05) 9,16% | 0,2*(± 0) 1,66% | 1,9 (± 1,37) 15,83% | 0,8 (± 0,63) 6,66% | 4 33,3% |
| | tp | 0 0% | 2,9 (± 1,19) 24,16% | 0,7 (± 0,67) 5,83% | 0,3* (± 0) 2,5% | 4 33,3% |
| | np | 1,9 (± 1,19) 15,83% | 0,6 (± 0,96) 5% | 1,1 (± 0,87) 9,16% | 0,4 (± 0,51) 3,33% | 4 33,3% |
| (d) Controle | tb | 1,4 (± 1,07) 11,66% | 0 0% | 1,7 (± 1,05) 14,16% | 0,9 (± 0,87) 7,5% | 4 33,3% |
| | tp | 0 0% | 2,2 (± 1,54) 18,33% | 1,5 (± 1,50) 12,5% | 0,3 (± 0,67) 2,5% | 4 33,3% |
| | np | 0 0% | 0 0% | 0 0% | Ninfas vivas 3,8 (± 0,63) 31,66% | 3,8 31,66% |

*Ocorrência de evento em apenas uma amostra.

No cenário TB, *T. basalis* emergiu de 25,8% dos ovos (12,5% em ovos TB + 13,3% em ovos sadios), enquanto *T. podisi* emergiu de 12,5% dos ovos. No entanto, a maioria dos

ovos parasitados não foram viáveis. Neste cenário, a taxa de mortalidade de parasitóides (ovos parasitados sem emergência) foi de 52,93% (18,33% em ovos TB + 20% em ovos TP + 14,6% em ovos sadios). Apenas 8,33% dos ovos não foram parasitados (Fig.16, Tab.3b). A redução da viabilidade esperada de ovos previamente parasitados por *T. podisi* (de 33% para 12,5%) e a baixa viabilidade de ovos parasitados pela espécie (ovos previamente parasitados por TB) sugerem a ocorrência de multiparasitismo e superparasitismo (Tab.3b).

No cenário de competição interespecífica (TB vs TP), *T. podisi* foi a espécie que exibiu maior taxa de emergência. Foi observado aproximadamente 30% dos ovos com emergência de *T. podisi* (24,16% em ovos TB + 5% em ovos sadios), enquanto *T. basalis* emergiu de 25% do total de ovos disponíveis (9,16% em ovos TB + 15,83% em ovos sadios). A porcentagem de ovos parasitados sem emergência de parasitoides foi de 30,8% (15,83% em ovos TB + 5,83% em ovos TP + 9,16% em ovos sadios) (Fig. 16, Tab.3c). No cenário no qual as duas espécies competem pelos ovos as taxas de emergência de novos parasitoides foi maior comparado aos demais cenários. Também foi observado a emergência de *T. podisi* de ovos previamente parasitados por *T. basalis* (Tab.3c).

No grupo controle, que considerou somente o parasitismo prévio sem a presença das fêmeas parasitoides, os ovos parasitados por *T. podisi* tiveram viabilidade mais elevada (18,33%) comparada a viabilidade de *T. basalis* (11,66%) (Tab.3d). Também foi observado a ocorrência de ovos inférteis, o que influenciou a porcentagem de ovos não parasitados no grupo controle (Fig.16, Tab.3d).

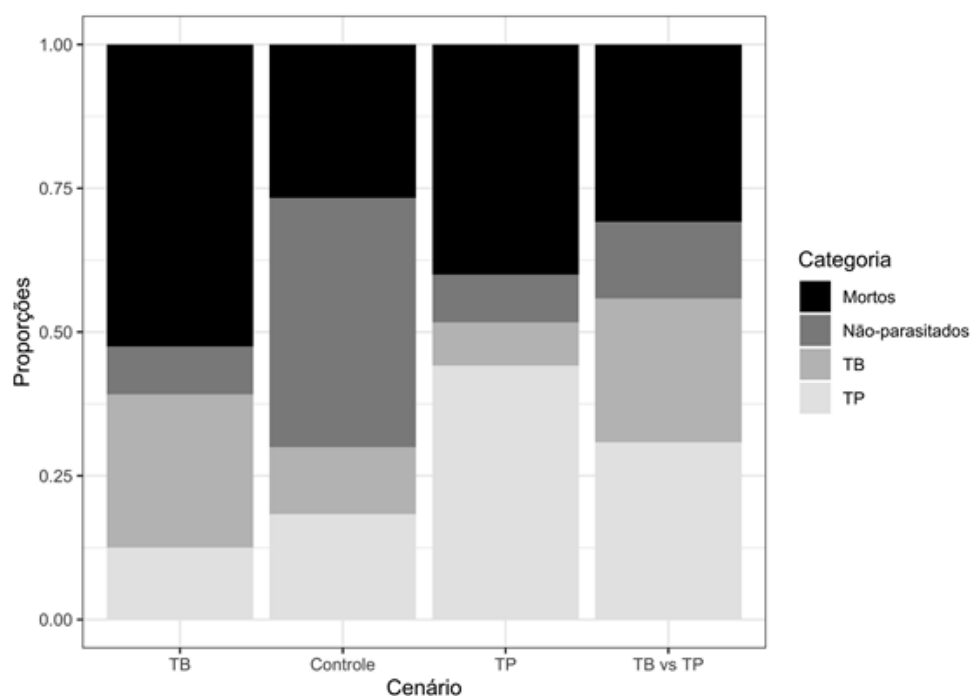


Figura 16: Proporção do sucesso reprodutivo (emergência da prole) de cada espécie parasitoide, da mortalidade de parasitoides (ovos parasitados sem emergência de parasitoides) e de ovos não parasitados nos cenários experimentais TP, Controle (somente parasitismo primário), TP e TB vs TP.

Visando avaliar a habilidade das espécies em evitar o parasitismo de ovos previamente parasitados, foram analisadas as taxas de parasitismo das espécies em ovos sadios presentes nos cenários experimentais. A análise do sucesso reprodutivo mostrou que o cenário experimental (TP, TB, TB vs TP) teve influência sobre o sucesso do parasitismo ($\chi^2=76,29$, $gl=6$, $p<0.001$). Dentro de cada cenário, todas as comparações par a par entre os grupos de ovos mostraram diferenças significativas. No cenário TB foi observado que 42,5 % ovos sadios parasitados por *T. basalis* não foram viáveis. As taxas de mortalidade para os tratamentos TP e TB vs TP em ovos sadios foram menores, 15% e 27% respectivamente (Fig. 17).

Quando presente somente uma espécie nas arenas experimentais, a maior taxa de emergência de prole foi observada em *T. podisi* (65%) no cenário TP. Quando fêmeas das duas espécies estavam presentes na mesma arena experimental (competição interespecífica - cenário TB vs TP), a espécie com o maior sucesso e emergência de prole em ovos sadios foi *T. basalis* (47,5%). Quando ambas as espécies estavam presentes, a prole de *T. podisi* emergiu em apenas 12,5% dos ovos sadios (Fig. 17).

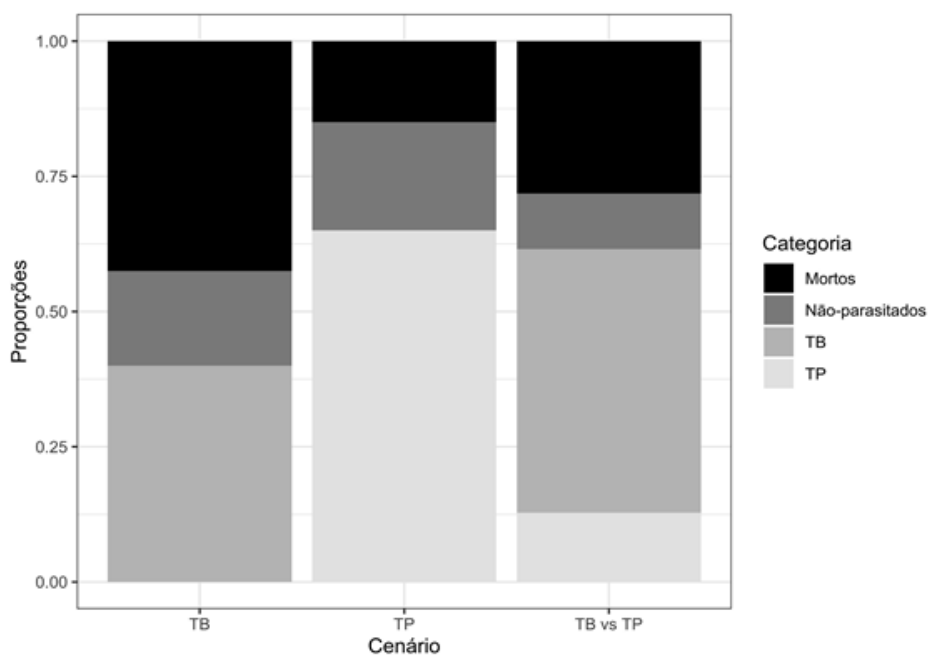


Figura 17: Proporção do sucesso reprodutivo (emergência de prole) de cada espécie parasitoide, da mortalidade (ovos parasitados sem emergência de parasitoides) e de ovos sem parasitismo nos cenários TP, TB e TB vs TP considerando apenas em ovos sadios (sem parasitismo prévio).

A razão sexual da prole dos parasitoides nos cenários em que fêmeas sozinhas e em competição interespecífica forrageavam em arenas com ovos previamente parasitados e sadios, não foi influenciada pela espécie parasitoide presente (TB: $F_{3,28}=0.23$ $p=0.87$ e TP: $F_{3,30}=0.53$ $p=0.663$). Em média, a percentagem de fêmeas na prole de *T. basalis* foi 71.5%, 72.2% e 70.4% e *T. podisi* 92%, 82% e 85.7% nos cenários TB; TP e TB vs TP, respectivamente.

3.1 Padrão de Emergência

A análise dos padrões de emergência (parasitoides/dia) permitiu avaliar a habilidade das espécies em evitar o superparasitismo e/ou multiparasitismo em duas situações: quando fêmeas forragearam sozinhas ou na presença de outra espécie competidora. O grupo controle foi usado como referência de tempo de emergência da prole nos ovos sadios para a comparação do período de emergência e sucesso reprodutivo do primeiro e segundo eventos de parasitismo, uma vez que é esperado que, nos ovos previamente parasitados (48h antes do início do experimento), a emergência da prole ocorra antes, com base no tempo de emergência das espécies encontrados no controle.

No cenário TB, em que apenas uma fêmea de *T. basalis* estava presente, a prole proveniente de ovos previamente parasitados por *T. basalis* iniciou por volta do 12º dia. A prole de ovos previamente parasitados por *T. podisi* e de ovos sadios teve início em aproximadamente 2 dias depois. Assim, na segunda semana após o parasitismo (8º ao 15º dia), a maior parte dos parasitoides presentes (prole) foi constituída por *T. basalis* (parasitismo prévio). Na terceira semana após o parasitismo (16º ao 22º dia) estavam presentes a prole de *T. podisi* (parasitismo prévio) e *T. basalis* (parasitismo secundário prole das fêmeas que ovipositaram em ovos sadios). Neste cenário, o sucesso de parasitismo de *T. basalis* em ovos provenientes do parasitismo prévio e secundário foram semelhantes ao final do período de emergência dos parasitoides (Figura 18b, linhas sólida e pontilhada, respectivamente).

Quando apenas a fêmea da espécie *T. podisi* estava presente (cenário TP) na arena experimental, a prole proveniente de ovos previamente parasitados por conspecíficos iniciou a emergência por volta do 12º dia e se estendeu até a terceira semana após o início do parasitismo (16º ao 22º dia). A prole proveniente de ovos sadios e dos ovos previamente parasitados por *T. basalis* iniciou a emergência a partir do 14º dia, entretanto, a maior parte da prole emergiu na terceira semana (16º ao 22º dia) após o parasitismo. Neste cenário, o sucesso do primeiro e segundo parasitismo de *T. podisi* foram semelhantes (Figura 18c: linhas tracejada e pontilhada, respectivamente), enquanto que a taxa de emergência dos parasitoides em ovos parasitados por *T. basalis* (Figura 18c, linha sólida) foi menor. A redução da viabilidade da prole e o atraso do período de emergência de *T. basalis* sugerem a ocorrência de multiparasitismo e consequente competição de imaturos no interior dos ovos, resultando em atraso no tempo de desenvolvimento das larvas no interior dos ovos.

No cenário em que as fêmeas das espécies *T. basalis* e *T. podisi* (TB vs TP) competiam pelos ovos disponíveis na arena experimental, a emergência da prole provenientes de ovos previamente parasitados por *T. podisi* e *T. basalis* ocorreu por volta do 12º dia após o início do parasitismo. Já a emergência da prole oriunda dos ovos sadios se iniciou 2 dias depois. A prole dos ovos previamente parasitados por *T. podisi* emergiu quase totalmente na segunda semana após o parasitismo (8º ao 15º dia) enquanto que, o período de emergência da prole advinda dos ovos previamente parasitados por *T. basalis* e dos ovos sadios se estendeu até a terceira semana após o parasitismo (16º ao 22º dia). Neste cenário, o sucesso da prole proveniente de ovos previamente parasitados por *T. podisi* e de ovos sadios (Figura 18c: linhas tracejada e pontilhada, respectivamente) foi maior quando comparada a prole de ovos advindos previamente parasitados por *T. basalis* (Figura 18c linha sólida). O atraso do período de emergência da prole de *T. basalis* (parasitismo prévio) e a menor taxa de emergência da prole

sugerem a ocorrência de superparasitismo e/ou multiparasitismo, com conseqüente mortalidade dos imaturos no interior do ovo. A redução do período de emergência de *T. podisi* também é um indicativo que as fêmeas adultas das espécies ovipositaram em ovos previamente parasitados durante o parasitismo o que afetou o tempo de desenvolvimento dos imaturos no interior dos ovos e conseqüentemente o padrão da curva de emergência das espécies.

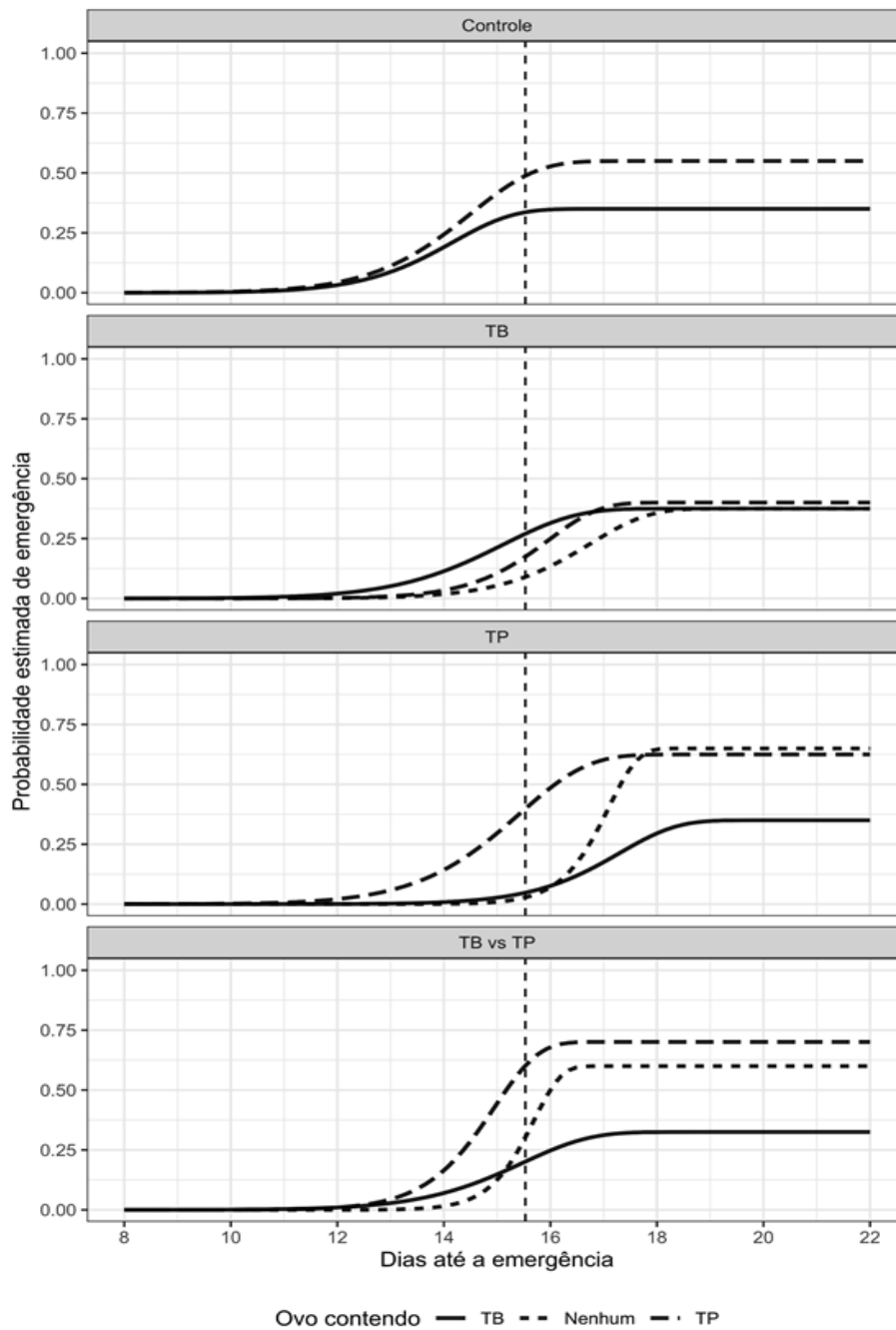


Figura 18: Padrão de emergência (probabilidade cumulativa) de prole dos grupos de ovos contendo TB: parasitismo prévio por *Trissolcus basalis*; TP: parasitismo prévio por *Telenomus podisi*; Nenhum: Ovos sadios; das espécies parasitoides em função do tempo (dias) nos diferentes cenários: TB- quando apenas a fêmea da espécie *T. basalis* estava presente ; TB vs TP- quando as fêmeas das espécies *T. basalis* e *T. podisi* estavam presentes simultaneamente e; TP- quando apenas a fêmea da espécie *T. podisi* estava presente na arena experimental; Controle – quando apenas ocorreu o parasitismo prévio, sem acréscimo de fêmeas das espécies.

Com o objetivo de avaliar a habilidade das fêmeas das espécies em identificar ovos sadios em meio a ovos previamente parasitados nos três cenários estudados (TB, TP e TB vs TP), foi analisado o padrão de emergência considerando o total de prole emergente dos ovos sadios. De maneira geral, *T. basalis* apresentou menor tempo de desenvolvimento e consequentemente tempo de emergência mais curto comparado a *T. podisi*, semelhante a resultados prévios obtidos em ovos sadios (Fig. 19)

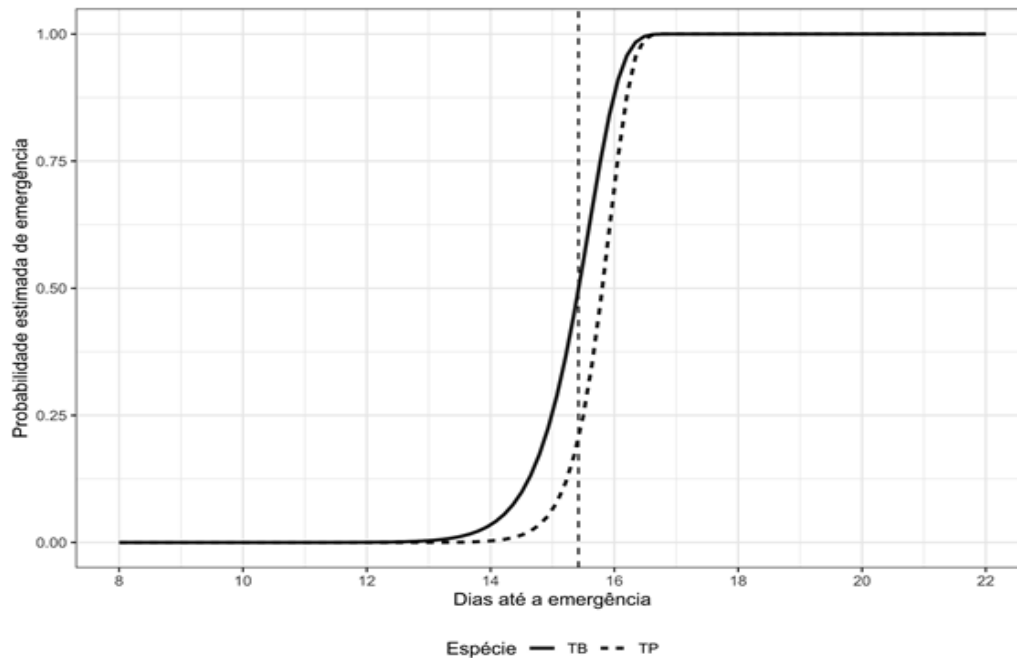


Figura 19: Padrão de emergência (probabilidade cumulada) da prole emergente de ovos sadios das espécies *Trissolcus basalis* (TB) e *Telenomus podisi* (TP) em função do tempo. (Foram considerados todos os tratamentos TB, TP e TB vs TP).

3.2 Avaliação e quantificação do comportamento de oviposição das fêmeas parasitoides durante o parasitismo sequencial

Durante todo o tempo de observação, as fêmeas parasitoides exibiram os diferentes tipos de comportamentos repetidas vezes durante o forrageio na arena experimental. Entretanto, a análise mostrou que a média geral da frequência dos diferentes tipos de comportamento exibidos ao longo do tempo de observação do parasitismo não diferiu entre as espécies ($\chi^2=0.14301$, gl = 3, p=0,9862). O comportamento mais frequente exibido por ambas as espécies parasitoides foi o “tamborilar”, ou seja, a inspeção do hospedeiro através das antenas (Fig. 20a). Entretanto, embora o tamborilar tenha sido a atividade comportamental mais frequente,

a oviposição foi o comportamento no qual as fêmeas alocaram maior quantidade de tempo (Fig. 20b).

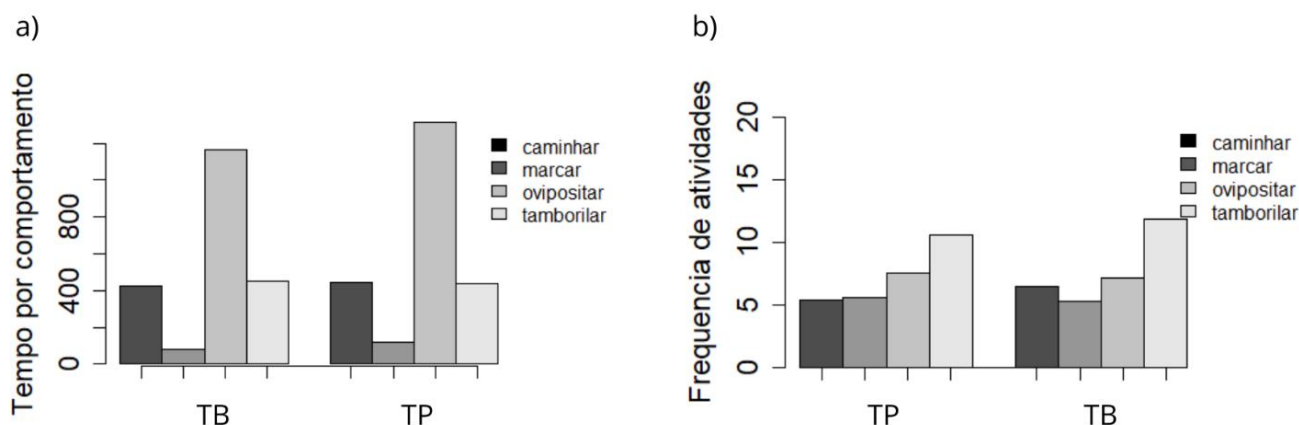


Fig. 20. a) Tempo por comportamento total em cada atividade comportamental (segundos) **b)** Frequência total das atividades comportamentais: caminhar; marcar; ovipositar; tamborilar (TB – *Trissolcus basalis*; TP – *Telenomus podisi*).

Com o objetivo de verificar e quantificar de forma mais detalhada a ocorrência de casos de superparasitismo e multiparasitismo evidenciados nos resultados obtidos, experimentos observacionais e análises de frequência dos eventos comportamentais da fêmea em cada grupo de ovos foram realizadas (Tab. 4).

Tab.4. Média (\pm desvio padrão) da frequência dos tipos de comportamento: tamborilar, ovipositar, marcar, das fêmeas de *T. basalis* e *Telenomus podisi* dentro de cada grupo de ovos (TP, TB e sadio) no parasitismo sequencial ao longo de 35 minutos de observação. **TB)** *TB* \times *sadio*: *T. basalis* em ovos sadios; *TB* \times *TB*: *T. basalis* em ovos previamente parasitados pela própria espécie; *TB* \times *TP*: *T. basalis* em ovos previamente parasitados por *T. podisi*) **TP)** *TP* \times *sadio*: *T. podisi* em ovos sadios; *TP* \times *TP*: *T. podisi* em ovos previamente parasitados pela própria espécie; *TP* \times *TB*: *T. podisi* em ovos previamente parasitados por *T. basalis*.

| | TB \times sadio | TP \times sadio | TB \times TB | TP \times TB | TB \times TP | TP \times TP |
|------------|-------------------|-------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| tamborilar | 5,41 \pm 4,23 | 5,25 \pm 2,98 | 1,50 \pm 1,50 | 5,25 \pm 3,44 | 3,66 \pm 4,71 | 1,08 \pm 1,37 |
| ovipositar | 4,00 \pm 3,43 | 3,58 \pm 1,50 | 0,75 \pm 1,35 | 3,33 \pm 2,34 | 2,91 \pm 4,35 | 0 \pm 0 |
| marcar | 3,08 \pm 2,77 | 2,58 \pm 1,88 | 0,66 \pm 0,66 | 2,33 \pm 1,82 | 1,75 \pm 2,66 | 0 \pm 0 |

A oviposição em ovos previamente parasitados por conspécíficos foi observada somente em *T. basalis*, evidenciando a ocorrência de superparasitismo. Em contrapartida, a ausência de oviposições em ovos parasitados previamente por conspécíficos sugerem que as fêmeas de *T. podisi* foram capazes de identificar marcações feitas por fêmeas da própria espécie, evitando o superparasitismo (Tab.4). O maior número de oviposições ocorreram em ovos sadios, seguido do grupo de ovos previamente parasitados pela espécie concorrente, evidenciando a ocorrência do multiparasitismo na competição indireta por ovos em ambas as espécies (Tab.4, Fig.21).

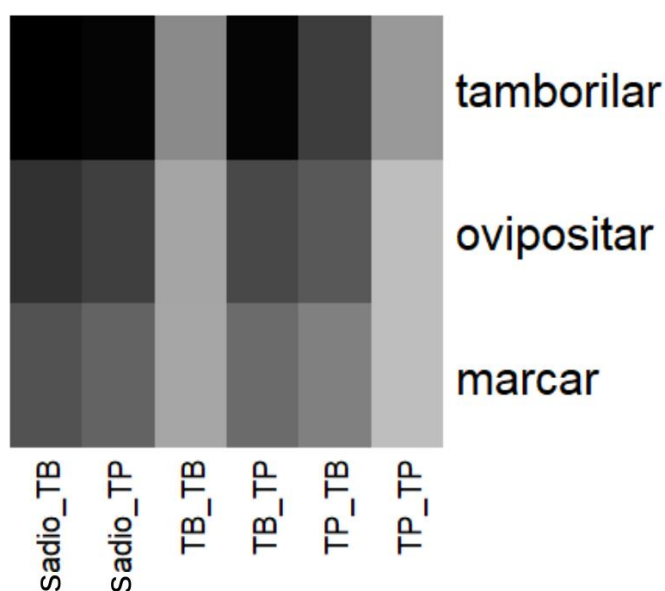


Fig. 21. Frequência comparativa dos diferentes tipos de comportamentos exibidos por *Telenomus podisi* e *Trissolcus basalis* nos diferentes grupos de ovos durante o parasitismo sequencial ao longo de 35 minutos de observação. Eixo x – grupos de ovos: *sadio_T*: *T. basalis* em ovos sadios; *TB_TB*: *T. basalis* em ovos previamente parasitados pela própria espécie; *TP_TB*: *T. basalis* em ovos previamente parasitados por *T. podisi*; *sadio_TP*: *T. podisi* em ovos sadios; *TP_TP*: *T. podisi* em ovos previamente parasitados pela própria espécie; *TB_TP*: *T. podisi* em ovos previamente parasitados por *T. basalis*. No gráfico, a variação das cores do preto ao cinza claro representa a variação gradual da maior para a menor frequência observada, respectivamente.

Ao longo do tempo de estudo, os ovos nos quais foi observada a oviposição foram avaliados após a remoção dos parasitoides, possibilitando a estimativa da viabilidade da prole dos parasitoides através da emergência dos parasitoides. A viabilidade da prole após o parasitismo sequencial de *T. podisi* ($F_{17,1}=17,409$, $p<0,005$) e *T. basalis* ($F_{16,2}=6,16$, $p < 0,005$) foi diferente nos diferentes grupos de ovos (Tab.4).

Tab. 5. Média das frequências de oviposições e viabilidade da prole de *Trissolcus basalís* e *Telenomus podisi* nos diferentes grupos de ovos (sadios, TB e TP) após o parasitismo sequencial. Na tabela é mostrado a média das frequências de comportamentos de oviposição do parasitismo secundário em cada grupo de ovos nos quais foi observada a oviposição pelas fêmeas parasitoides.

| Espécie parasitoides | Grupos de ovos | Frequências de oviposições (Parasitismo sequencial) | Viabilidade dos ovos após o parasitismo sequencial |
|----------------------|----------------|---|--|
| <i>T. podisi</i> | sadios | 82% | 88,9% a |
| | TB | 80% | 30,3% b |
| | TP | - | - |
| <i>T. basalís</i> | sadios | 56% | 20,83% a |
| | TB | 16% | 16,67% a |
| | TP | 41% | 77,77% b |

Letras diferentes representam diferença significativa entre a viabilidade dos diferentes grupos de ovos no parasitismo sequencial de cada espécie parasitoide (Teste de Wald, $p < 0,05$)

A viabilidade dos ovos sadios e ovos previamente parasitados por conspecificos (TB) após eventos de oviposição por *T. basalís* foram baixas e não diferiram significativamente entre si (Tab.5), indicando que a competição intra-ovo resultou em alta mortalidade das larvas no interior dos ovos. Em contrapartida, quando a oviposição da espécie se deu em ovos previamente parasitados por *T. podisi*, a viabilidade da prole foi maior, comparada a prole dos demais ovos, indicando que na competição intra-ovo, as larvas de *T. podisi* presentes nos ovos teve maior sucesso (Tab.5).

Telenomus podisi não ovipositou em ovos previamente parasitados por conspécíficos, evitando o superparasitismo. A viabilidade em ovos sadios foi alta, entretanto, quando a oviposição em ovos previamente parasitados por *T. basalís* (multiparasitismo) levou a baixa viabilidade da prole, indicando efeitos negativos da competição intra-ovo de suas larvas com de *T. basalís* presentes nos ovos (Tab.5).

4 Discussão

Nos cenários experimentais em que estava presente somente uma fêmea parasitoide, o sucesso reprodutivo da espécie ficou restrito à interação competitiva entre sua prole e a prole advinda do parasitismo prévio no interior dos ovos. A capacidade em discriminar ovos sadios e previamente parasitados por conspecíficos das fêmeas, entretanto, influenciou de maneira direta o sucesso reprodutivo da espécie nas arenas experimentais, uma vez que, ao ovipositar em ovos já parasitados, a fêmea coloca em risco o desenvolvimento de sua prole, ao expô-la a competição com larvas já presente no interior dos ovos. Sendo assim, ao depender das circunstâncias encontradas, o parasitoide deve decidir se faz a oviposição ou não, a fim de ter o máximo sucesso reprodutivo (van Alphen e Visser, 1990; Lebreton et al, 2009). De maneira geral, o parasitismo secundário levou a redução da viabilidade do parasitismo nas arenas experimentais, indicando que a competição intra-ovo resulta, na maioria das vezes, em redução populacional em ambas espécies parasitoides.

Nas arenas experimentais nas quais estava presente somente uma fêmea, a menor taxa de emergência de novos parasitoides foi observada quando o segundo evento de parasitismo se deu por uma fêmea de *T. basalis*. As fêmeas de *T. basalis* não evitaram ovipositar em ovos nos quais a prole de sua espécie estava presente, levando ao superparasitismo e consequente mortalidade de parte da prole de conspecíficos presentes nas arenas experimentais. Segundo Thomas Jr. (1972), o super-parasitismo pode acontecer com maior frequência em condições de laboratório.

A quantidade de ovos previamente parasitados por *T. podisi* também foi reduzida, indicando a ocorrência de multiparasitismo, que resultou em morte de sua prole no interior dos ovos. Foi observada a emergência de apenas um indivíduo de *T. basalis* proveniente de ovos previamente parasitados por *T. podisi*, indicando na competição indireta (intra-ovo) com larvas de outras espécies, há redução do sucesso reprodutivo da espécie. Entretanto, embora a emergência de novos parasitoides na presença de *T. basalis* tenha sido a menor dentre os cenários experimentais estudados, a quantidade de novos indivíduos de sua espécie foi a mais abundante dentre a prole resultante.

Quando o segundo evento de parasitismo se deu por somente uma fêmea de *T. podisi*, a taxa de emergência final de parasitoides foi maior. A quantidade de indivíduos final de *T. podisi* superou a quantidade de ovos previamente parasitados por seus conspecíficos, devido ao parasitismo bem-sucedido em ovos sadios (parasitismo prévio), o que indica que a espécie

conseguiu discriminar marcações de conspecíficos em ovos parasitados, evitando o superparasitismo e as perdas populacionais da espécie. A mortalidade de ovos previamente parasitados por *T. basalis*, pode ser devido a ocorrência de multiparasitismo, entretanto, a emergência de *T. podisi* em ovos previamente parasitados por *T. basalis* sugere maior capacidade competitiva dos imaturos da espécie na aquisição de recursos dos hospedeiros.

No cenário em que ambas as espécies estavam presentes no segundo evento de parasitismo e competiam pelos diferentes grupos de ovos, a competição direta entre as fêmeas forrageadoras e a competição indireta (intra-ovo) influenciaram as taxas de emergência de novos parasitoides nas arenas experimentais. A taxa de mortalidade de ovos total foi de 30% e a ocorrência da competição após prévio ataque de parasitoides promoveu maior sucesso reprodutivo de *T. podisi* neste cenário experimental. Estes resultados também sugerem maior habilidade da espécie em evitar ovipositar em ovos já parasitados por conspecíficos e maior habilidade competitiva na exploração de hospedeiros.

O confronto entre larvas devido ao multiparasitismo resultou em altas taxas de mortalidade e também em modificações no período de emergência das espécies. De maneira geral, a prole gerada por *T. basalis* emergiu em menor período de tempo, comparado a prole de *T. podisi*, quando as fêmeas tinham disponíveis somente ovos sadios para parasitar. Com base nos padrões de emergência, era esperado que os ovos parasitados previamente (que continham larvas com aproximadamente 48h de idade) apresentassem padrões próximos dos observados nestes cenários, pois na competição, estas larvas tinham vantagens por serem mais velhas. Entretanto, na presença de diferentes grupos de ovos, a ocorrência da competição larval intra-ovo alterou os padrões de emergência.

O padrão de emergência de *T. basalis* foi alterado com a ocorrência do parasitismo sequencial, principalmente na presença de *T. podisi*, ou seja, a ocorrência do multiparasitismo atrasou a emergência dos parasitoides, sugerindo efeitos da competição sobre a fisiologia e desenvolvimento dos imaturos (Mackauer, 1990; Godfray, 1994; Cusumano et. al., 2010). Em estudo realizado por Cusumano et al (2015), o desenvolvimento de *T. basalis* foi significativamente mais longo quando os indivíduos sobreviveram em competição interespecífica. Embora menor, o superparasitismo também levou ao atraso no tempo de emergência (cenário TB). Mudanças no padrão de emergência de *T. podisi* foram menos pronunciadas. A maior alteração foi observada quando presentes somente fêmeas de *T. basalis* (cenário TB), quando o período de início de emergência da prole apresentou atraso.

De forma geral, os resultados dos cenários experimentais com competição indireta indicam que ambas as espécies não foram capazes de discriminar ovos parasitados pela outra

espécie. A discriminação interespecífica de hospedeiros parasitados é bastante incomum e observada apenas em espécies parasitoides estreitamente relacionadas (Pijls et al., 2010). As marcações de hospedeiro parasitados funcionam principalmente em nível específico, possibilitando que as fêmeas diferenciem marcas e sinais químicos deixados por conspecíficos, evitando o superparasitismo (Okuda e Yeorgan 1988a; Van Baaren et al. 1994; Agboka et al. 2002).

Além da incapacidade de distinguir marcações interespecíficas, a baixa densidade de hospedeiros disponíveis, ou seja, quando o encontro com hospedeiros não parasitados é pouco frequente, também pode levar a multiparasitismo (Godfray, 1994). Neste caso, ovipositar em ovos já parasitados envolve um risco para o parasitoide, uma vez que sua prole é forçada competir por recurso no estágio larval, o que pode ser letal (Cingolani et. al 2013). Assim, o tempo entre as oviposições também passa a ser um importante fator para o sucesso de uma espécie no multiparasitismo (Cusomano et al., 2010). Geralmente, parasitar primeiro dá aos parasitóides vantagem competitiva, o que conferem às larvas mais velhas a vantagem em um confronto físico (Irvin et al., 2006; Magdaraog et al., 2012), embora a competição larval também pode ser mediada por mecanismos de supressão fisiológica. Ambos mecanismos podem acarretar na morte de uma ou duas espécies ou afetar o desenvolvimento das larvas, o que pode refletir em alterações no período de emergência da prole (Mackauer, 1990; Godfray, 1994; Cusomano et. al., 2010).

Os parasitoides percorrem uma série de passos no processo de busca e seleção de hospedeiros, que envolvem a localização, reconhecimento e análise de aceitação para verificar se o hospedeiro está apto para o desenvolvimento da prole (Alphen van e Vet, 1986; Vinson 1998; Steidle e Van Loon, 2002). Na etapa de busca e seleção pelo hospedeiro, os parasitoides utilizam estímulos químicos e físicos que podem orientar e alterar as atividades comportamentais das fêmeas até descartar ou concluir a oviposição no hospedeiro (Vinson 1985; Godfray 1994; Vilella e Della Lucia 2001). Os processos de reconhecimento e seleção do hospedeiro viável para a oviposição também envolvem estímulos morfológicos e físicos, sendo eles: comportamentos de tamborilamento (análise dos ovos através do contato com as antenas), inspeção do ovo até concluir a oviposição (Vinson, 1985; Bin et al., 1993). Por último, após a oviposição ser realizada, ocorre o processo de marcação, o qual os parasitoides aplicam marcadores químicos raspando o ovipositor extrudado na superfície do ovo do hospedeiro (Strand 1989).

A avaliação dos efeitos de interações competitivas que surgem em sistemas nos quais um mesmo hospedeiro pode ser atacado por diferentes espécies parasitoides se faz necessária

para a efetiva aplicação do controle biológico, uma vez que a competição entre espécies pode resultar na troca de hospedeiros ou redução populacional de parasitoides, reduzindo a eficiência do controle biológico da praga alvo (Murdoch et al., 1998; Reitz e Trumble, 2002).

Os resultados encontrados neste estudo indicam que as interações interespecíficas podem ter importante efeito na manutenção das populações das espécies parasitoides no campo. Neste contexto, a eficácia do controle biológico quando ocorre liberação de um agente de controle em áreas com alta densidade de outras espécies de inimigos naturais, ou casos de liberação conjunta de espécies de parasitoides, por exemplo, deve ser discutida.

Alguns estudos mostram que quanto mais espécies parasitoides presentes, maior o efeito da redução da densidade dos insetos pragas (De Bach, 1966; Stilling e Cornelissen, 2005). Por outro lado, outros estudos mostram que a presença de múltiplas espécies pode reduzir a eficácia do controle biológico quando ocorre a competição ou a ocorrência de hiperparasitismo facultativo (Murdoch et al., 1998; Denoth et al., 2002). De fato, o uso conjunto de espécies parasitoides traz benefícios quando os nichos das espécies não se sobrepõem, ou se sobrepõem parcialmente, por exemplo, quando as espécies atacam diferentes estágios de vida do hospedeiro ou quando as espécies são capazes de discriminar hospedeiros já parasitados por outras espécies (Cusumano et al., 2010).

A co-ocorrência temporal e espacial de adultos de *T. podisi* e *T. basalis* em culturas de soja pode ser comum quando a liberação de uma das espécies ocorre em um local onde *T. basalis* ou *T. podisi* já estão presentes, por exemplo. Pesquisas de ovos de *E. heros* parasitados naturalmente, na região central do Brasil, mostraram que a coexistência entre *Trissolcus spp* e *Telenomus podisi* pode ocorrer no campo (Medeiros et al., 1997). Assim, a ocorrência do parasitismo sequencial envolvendo as espécies estudadas pode acontecer de maneira frequente nas culturas de soja, o que pode levar a reduções do sucesso de reprodutivo das espécies e a alterações no período de emergência da prole.

A co-ocorrência das espécies também pode resultar no desacoplamento da sincronia entre os períodos no qual ocorre a emergência de novos parasitoides e a presença de altas densidades dos estágios de vida dos hospedeiros que são susceptíveis aos parasitoides. Dessa forma, o conhecimento dos efeitos das interações competitivas sobre a variação do período de emergência da prole dos agentes biológicos aplicados pode ajudar no planejamento de liberação de parasitoides no campo, uma vez que o conhecimento da probabilidade de ocorrência deste “escape” na população de hospedeiros pode evitar surtos populacionais da praga nas gerações seguintes e assim manter a população da praga abaixo do nível de controle por maior período de tempo. Assim, o acompanhamento recorrente das interações presentes

nesses sistemas é necessário para que as estratégias de controle ocorram de forma eficaz e nos momentos esperados.

REFERÊNCIAS

Agboka, K., Schulthess, F., Chabi-olaye, A., Labo, I., Gounou, S., Smith, H., 2002. Self-, intra-, and interspecific host discrimination in *Telenomus busseolae* Gahan and *T. Isis* Polaszek (Hymenoptera: Scelionidae), sympatric egg parasitoids of the African cereal stem borer *Sesamia calamistis* Hampson (Lepidoptera: Noctuidae). *J Insect Behav* 15, p. 1–12. <https://doi.org/10.1023/A:1014471826914>

Bin, F., Vinson, S. B., Strand, M. R., Colazza, S., Jones, W. A., 1993. Source of an egg kairomone for *Trissolcus basalis* a parasitoid of *Nezara viridula*. *Physiological Entomology*, v. 18, p. 7-15.

Brodeur, J. Boivin, G., 2006. Intra and inter-specific interactions among parasitoids: mechanisms, outcomes and biological control. In: Boivin, G. e Brodeur, J. G. (eds). *Trophic and guild interactions in biological control*. Springer, Dordrecht, The Netherlands. p. 249.

Cingolani, M. F., Greco, N. M., Liljeström, G. G., 2013. Multiparasitism of *Piezodorus guildinii* eggs by *Telenomus podisi* and *Trissolcus urichi*. *BioControl* 58, p. 37–44. <https://doi.org/10.1007/s10526-012-9484-9>

Conab., 2021: <https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/3788-colheita-de-soja-tem-inicio-e-producao-deve-atingir-133-7-milhoes-de-toneladas>

Cornelissen., T., Stilling, P., 2005. Sex-biased herbivory: A meta-analysis of the effects of gender on plant-herbivore interactions. *Oikos*, 111, p. 488–500. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2005.14075.x>

Corrêa-Ferreira, B. S., 1991. Parasitóide de ovos: incidência natural, biologia e efeito sobre a população de percevejos da soja. Curitiba. Tese de doutorado. Universidade Federal do Paraná, p. 229.

Corrêa-Ferreira, B. S., 1993. Utilização do parasitóide de ovos *Trissolcus basal* (Wollaston) no controle de percevejos da soja. Londrina: Embrapa CNPSo., (Embrapa-CNPSo. Circular Técnica, 11). <https://core.ac.uk/download/pdf/15439609.pdf>

Corrêa-Ferreira, B. S., Panizzi, A. R., 1999. Percevejos da soja e seu manejo. Circular Técnica 24. Londrina, Embrapa Soja, p. 45.

Corrêa-Ferreira, B. S., Alexandre, T. M., Pellizaro, E. C., Moscardi, F., Bueno, A. F., 2010. Práticas de manejo de pragas utilizadas na soja e seu impacto sobre a cultura. Londrina: Embrapa - CNPSo, p. 15. (Embrapa – CNPSo. Circular Técnica ,78).

Corrêa-Ferreira, B.S., Krzyzanowski, F.C., Minami, C.A., 2009. Percevejos e a qualidade da semente de soja – série sementes. Londrina: Embrapa Soja, Circular técnica 67, 15, p. 2009.

Corrêa-Ferreira, B.S., Moscardi, F., 1995. Seasonal occurrence and host spectrum of egg parasitoids associated with soybean stink bugs. *Biological Control*, v. 5, p. 196-202.

Couchoux, C., van Nouhuys, S., 2014. Effects of intraspecific competition and hostparasitoid developmental timing on foraging behaviour of a parasitoid wasp. *Journal of Insect Behavior* 27: p. 283–301.

Cusumano, A., Peri, E., Bradleigh Vinson, S. et al., 2012. Interspecific extrinsic and intrinsic competitive interactions in egg parasitoids. *BioControl* 57, p. 719–734. <https://doi.org/10.1007/s10526-012-9451-5>

Cusumano, A., Peri, E., Vinson, S. B., Colazza, S., 2010. Intraguild interactions between two egg parasitoids exploring host patches. *BioControl* 56, p. 173-184. <https://doi.org/10.1007/s10526-010-9320-z>

Cusumano, A., Weldegergis, B. T., Colazza, S., 2015. Attraction of egg-killing parasitoids toward induced plant volatiles in a multi-herbivore context. *Oecologia* 179, p. 163–174. <https://doi.org/10.1007/s00442-015-3325-3>

Cusumano, A., Peri, E., Colazza, S., 2016. Interspecific competition/facilitation among insect parasitoids. *Insect Science*, v. 14, p. 12-16.

De Bach, P., 1966. The competitive displacement and coexistence principles. *Annales de la Revue de Entomologie*. 2, p. 183-212.

Denoth, M., Frid, L., Myers, J. H., 2002. Multiple agents in biological control: improving the odds. *Biol Control* 24, p. 20-30. [https://doi.org/10.1016/S10499644\(02\)00002-6](https://doi.org/10.1016/S10499644(02)00002-6)

Follet, P. A., Duan, J., Messing, R. H., Jones, V. P., 2000. Parasitoid drift after biological control introduction: re-examining Pandora's box. *American Entomologist*, Lanham, v. 46, p. 82-94.

Godfray, H. C. J., 1994. Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology. *Environ. Entomol.* 24 (2), p. 483–484. <https://doi.org/10.1093/ee/24.2.483>

Fisher, R. C., 1963. Oxygen requirements and the physiological suppression of supernumerary insect parasitoids. *J. Exp. Biol.* 40, p. 531–540.

Fisher, R. C., 1971. Aspects of the physiology of endoparasitic Hymenoptera. *Biol. Rev.* 46 (2), p. 243–278.

Harvey, J. A., Poelman, E. H., Tanaka, T., 2013. Intrinsic inter- and intraspecific competition in parasitoid wasps. *Annual Review of Entomology* 58: p. 333-351.

Irvin, N. A., Hoddle, M. S., Morgan, D. J. W., 2006. Competition between *Gonatocerus ashmeadi* and *G. triguttatus* for glassy winged sharpshooter (*Homalodisca coagulata*) egg masses. *Biocontrol Sci. Technol.* 16, p. 359–375. <https://doi.org/10.1080/09583150500532048>

Lebreton, S., Labarussias, M., Chevrier, C., Darrouzet, E., 2009. Discrimination of the age of conspecific eggs by an ovipositing ectoparasitic wasp. *Entomol. Exp. Appl.* 130, p. 28–34.

Mackauer, M., 1990. Host discrimination and larval competition in solitary endoparasitoids, p.41-62. In Mackauer M, Ehler L E, Roland J (eds) Critical issues in biological control, Intercept, Andover, p. 330.

Magdaraog, P. M., Harvey, J. A., Tanaka, T., Gols, R., 2012. Intrinsic competition among solitary and gregarious endoparasitoid wasps and the phenomenon of “resource sharing”. *Ecol. Entomol.* 37, p. 65–74. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.2011.01338.x>

Medeiros, M. A., Schimidt, F. G. V., Liácomo, M. S., Carvalho, V. F., Borges, M., 1997. Parasitismo e predação em ovos de *Euschistus heros* (Fab.)(Heteroptera: Pentatomidae) no Distrito Federal, Brasil. *An. Soc. Entomol. Bras.* 26, p. 397-401. <https://doi.org/10.1590/S0301-80591997000200026>

Mendoza, A. C., Rocha., A. C. P., Parra, J. R. P., 2016. Lyophilized artificial diet for rearing the Neotropical *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae), *J. Insect Sci.* 16, p. 41. <https://doi.org/10.1093/jisesa/iew025>

Moral, R., Hinde. J., Demétrio, C., 2017. Half-normal and overdispersed models in r: The hnp package. *Journal of Statistical Software, Articles* 81, p. 1-23. <https://www.jstatsoft.org/article/view/v081i10>

Murdoch, M. M., Briggs, C. J., Collier, T. R., 1998. Biological Control In Insect, Implications For The Theory In Population Ecology. In Dempster, J. P., Mclean, I.F.G. (Eds.). *Insect Populations In Theory And Practice.* p. 167-186. Kluwer Academic. Dordrecht.

Nechols, J. R., Kauffman, C. R., Schaefer, P. W., 1992. Significance of host specificity in classical biological control. Selection criteria and ecological consequences of importing natural enemies. Lanham: Entomological Society of America, p. 41-52.

Okuda, M. S., Yeargan, K. V., 1988. Intra- and interspecific host discrimination in *Telenomus podisi* and *Trissolcus euschisti* (Hymenoptera: Scelionidae). *Ann Entomol Soc Am* 81: p. 1017–1020. <https://doi.org/10.1093/aesa/81.6.1017>

Panizzi, A. R. et al., 2012. Insetos que atacam vagens e grãos. In: Hoffmann-Campo, C.B. et al. Soja manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. Londrina: Embrapa Soja, ap.5, p. 335-420.

Pijls, J. W. A. M., Hofker, K. D., Staalduinen, M. J. V., Alphen, J. J. M. V., 2010. Interspecific host discrimination and competition in *A. poanagyris* (Epidinocarsis) lopezi and *A. (E.) diversicornis*, parasitoids of the cassava mealybug *Phenacoccus manihoti*. Ecol. Entomol. 20, p. 326–332. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.1995.tb00464.x>

R Development Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing.*, 2015. R Foundation for Statistical Computing.

Ramirez, P. T., Chiva, L., Eriksson, A. G. Z., 2020. COVID-19 global pandemic oncology: options for management of gynecologic cancers. Int J Gynecol Cancer 30, p. 561–563. <http://dx.doi.org/10.1136/ijgc-2020-001419>

Reitz, S. R., Trumble, J. T., 2002. Competitive Displacement Among Insects And Arachnids. Annu. Rev. Entomo. 47, p. 435-465. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.47.091201.145227>

Rigby, R. A., Stasinopoulos, D. M., 2005. Generalized Additive Models for Location, Scale and Shape, (with discussion). Appl Stat 54, p. 507-554. <https://doi.org/10.1111/j.1467-9876.2005.00510.x>

Sales, F. M., 1979. Responsiveness and threshold for host seeking stimulation of the female *Trissolcus basalis* (Wollaston) by the eggs of the host *Nezara viridula* (L.). Fitossanidade, Fortaleza, v. 3, p. 36-39.

Steidle, J. L. M., van Loon, J. J. A., 2002. Chemoecology of parasitoid and predator oviposition behaviour. In: Hilker, M.; Meiners T. (Ed.). Chemoecology of insect eggs and egg deposition. Berlin: Blackwell Publishing. p. 291-317.

Strand, M. R., 1989. The physiological interactions of parasitoids with their hosts and their influence on reproductive strategies. In: Waage JK, Greathead D (eds) *Insect parasitoids*. Academic Press Inc., San Diego, USA, p. 97–136.

Thomas, J. W., Jr., 1972. Evaluation of *Trissolcus basalis* (Wollaston) as an Egg Parasite of *Nezara viridula* (Linnaeus), Unpublished M.Sc. thesis, Louisiana State University, Baton Rouge.

van Alphen, J. J. M., Vet, L. E., 1986. M. An evolutionary approach to host finding and selection. In: Waage, J.; Greathead, D. (Ed.). *Insect parasitoids*. London: Academic Press, p. 23-61.

van Alphen, J. J., Visser, M.E., 1990. Superparasitism as an adaptive strategy for insect parasitoids. *Annu. Rev. Entomol.* 35, p. 59–79.

van Baaren, J., Boivin, G., Nénon, J. P., 1994. Intra- and interspecific host discrimination in two closely related egg parasitoids. *Oecologia* 100, p. 325–330. <https://doi.org/10.1007/BF00316961>

Vilela, E. F., Della Lucia, T. M. C., 2001. *Feromônios de insetos: biologia, química e emprego no manejo de pragas*. 2. ed. Ribeirão Preto: Holos, p. 206.

Vinson, S. B., 1998. The general host selection behavior of parasitoid Hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. *Biological Control*, v. 11, n. 2, p. 79-96. DOI: 10.1006/bcon.1997.0601.

Wharton, R. A., 1989. Classical biological control of fruit Tephritidae. In: Robinson, A., Harper, G. (org.). *World Crop Pests, Fruit flies: Their Biology, Natural Enemies, and Control*. vol. 3b. Elsevier Science, Amsterdam. p. 303–313.

Conclusões Gerais

- As interações competitivas de *E. heros* e as espécies parasitoides *T. podisi* e *T. basalis* podem alterar as taxas de parasitismo, a viabilidade e o tempo de desenvolvimento da prole dos parasitoides, podendo influenciar a curto e a longo prazo a efetividade do controle biológico de *E. heros* na soja.
- Na competição direta por ovos sadios de *E. heros* (exploração simultânea de parasitoides), *T. podisi* apresenta as maiores taxas de parasitismo e emergência da prole em comparação a *T. basalis*. A presença simultânea das duas espécies (competição interespecífica) reduz a viabilidade das proles devido ao multiparasitismo, porém a eficiência no parasitismo e regulação de *E. heros* se mantem.
- Na exploração sequencial de parasitoides, nas interações competitivas intra-ovo (indireta), *T. podisi* apresenta maior sucesso reprodutivo e é capaz de discriminar ovos previamente parasitados por conspecíficos evitando o superparasitismo.
- No parasitismo sequencial, *Trissolcus basalis* apresenta menor sucesso reprodutivo e taxas de oviposição em ovos parasitados previamente por conspecíficos (superparasitismo).
- No parasitismo sequencial, ambas as espécies apresentam preferência por ovipositar em os ovos sadios ou em ovos previamente parasitados pelas espécies concorrentes, o que levou a competição larval interespecífica no interior do ovo da espécie hospedeira.