

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

LUIZA FIGUEIREDO CAMARGO

**Caracterização morfológica e molecular de *Campoletis*  
Foerster, 1869 (Hymenoptera, Ichneumonidae, Campopleginae),  
parasitoides de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera,  
Noctuidae).**

SÃO CARLOS  
2014

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

LUIZA FIGUEIREDO CAMARGO

**Caracterização morfológica e molecular de *Campoletis* Foerster, 1869 (Hymenoptera, Ichneumonidae, Campopleginae), parasitoides de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae).**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Federal de São Carlos como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais. Área de concentração: Ecologia e Recursos Naturais.

Orientação: Profa. Dra. Angélica M. Martins Penteado-Dias  
Co-orientação: Prof. Dr. Reinaldo Alves de Brito.

SÃO CARLOS  
2014

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

C172cm Camargo, Luiza Figueiredo.  
Caracterização morfológica e molecular de *Campoletis Foerster*, 1869 (Hymenoptera, Ichneumonidae, Campopleginae), parasitoides de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae). / Luiza Figueiredo Camargo. -- São Carlos : UFSCar, 2014.  
41 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2014.

1. Biologia molecular. 2. Agricultura. 3. Morfologia (Biologia). 4. Taxonomia. I. Título.

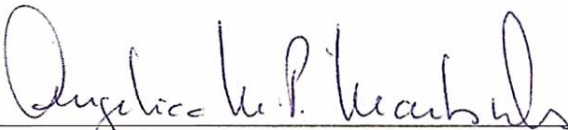
CDD: 574.88 (20<sup>a</sup>)

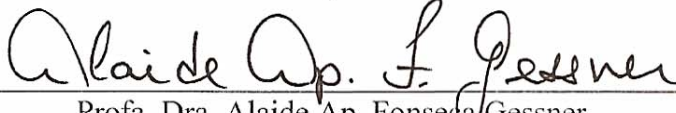
## LUIZA FIGUEIREDO CAMARGO

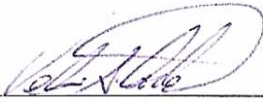
Dissertação apresentada à Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais.

Aprovada em 26 de março de 2014

### BANCA EXAMINADORA

Presidente   
\_\_\_\_\_  
Prof. Dra. Angélica M. P. M. Dias  
(Orientadora)

1º Examinador   
\_\_\_\_\_  
Prof. Dra. Alaide Ap. Fonseca Gessner  
PPGERN/UFSCar

2º Examinador   
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Valmir Antonio Costa  
Instituto Biológico/Campinas-SP

**Dedico este trabalho a todos os seres vivos, que permitem e participam da existência de um equilíbrio perfeito. Que este trabalho possa contribuir para a manutenção da natureza.**

## AULA DE VOO

“O conhecimento  
caminha lento feito lagarta.  
Primeiro não sabe que sabe  
e voraz contenta-se com o cotidiano orvalho

Depois pensa que sabe  
e se fecha em si mesmo:  
faz muralhas,  
cava trincheiras,  
ergue barricadas.  
Defendendo o que pensa saber  
levanta certezas na forma de muro,  
orgulhando-se de seu casulo.

Até que maduro  
explode em vôos  
rindo do tempo que imaginava saber  
ou guardava preso o que sabia.  
Voa alto sua ousadia  
reconhecendo o suor dos séculos  
no orvalho de cada dia.

Mesmo o vôo mais belo  
descobre um dia não ser eterno.  
É tempo de acasalar:  
voltar à terra com seus ovos  
à espera de novas e prosaicas lagartas.

O conhecimento é assim:  
ri de si mesmo  
e de suas certezas  
É meta da forma  
metamorfose  
movimento  
fluir do tempo  
que tanto cria como arrasa

a nos mostrar que para o vôo  
é preciso tanto o casulo  
como a asa.”

Mauro Luis Iasi

## **Agradecimentos**

A conclusão desse trabalho e junto dele o encerramento de um importante ciclo de minha vida não seria possível sem a presença de diversas pessoas. Assim eu agradeço imensamente:

A Deus, que me possibilitou esta oportunidade,

A Profa. Dra. Angélica M. Martins Penteado- Dias, pela confiança, incentivo, e maestria.

Ao CNPq – Conselho Nacional do desenvolvimento científico e tecnológico, pelo apoio financeiro.

Ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia dos Hymenoptera Parasitoides da região Sudeste Brasileira, pela estrutura e apoio financeiro.

A todos os professores e funcionários do programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, que muito me ensinaram e ajudaram.

Ao meu co-orientador, Reinaldo Brito por toda orientação prestada.

A todo pessoal do laboratório de genética de populações, que muito me ajudaram especialmente André Luis Andrade Lima, Samira Chahad- Ehlers, Iderval da Silva Junior Sobrinho, Aline Minali Nakamura.

Ao professor Fernando Consoli, por me receber em seu laboratório e me dar assistência e orientação.

A Alejandro Zaldívar Riverón por ter despertado em mim o interesse pela genética molecular, ter me recebido em seu laboratório na UNAM, me ensinado e auxiliado antes e durante o mestrado.

A grande amiga Sara Ceccareli por me ensinar, me acompanhar nas primeiras “aventuras moleculares” e me auxiliar com as análises.

Ao Fabio Laurindo que muito me ensinou e ajudou na análise dos dados.

A Vinicius Soares Sturza, do Instituto Federal Farroupilha, por me ceder parte do material de estudo.

Ao professor Valmir Costa, do Instituto Biológico, por ceder parte do material de estudo.

A Rafael Braga da Silva, da Embrapa Milho e Sorgo, por ceder parte do material de estudo.

A Gavin Broad, curador do Museu de História Natural de Londres, por enviar fotos do material tipo.

A Robert Kula, curador do Museu Nacional de História Natural de Washington, EUA, por enviar fotos do material tipo.

Aos integrantes da banca de qualificação: Prof. Dr. Manoel Martins Dias Filho, Ana Paula Loffredo e Helena Carolina Onody pelas sugestões e contribuições.

A Luciana Bueno dos Reis Fernandes por toda ajuda e trabalho com as imagens.

A todos os amigos do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Hymenoptera Parasitoide da Região Sudeste Brasileira: Ivy Frizo de Melo, Julia Benincasa, Carolina da Silva e Souza, Ana Paula Loffredo, Eduardo Mitio Shimbori, Soraya Alencar Torres, Clóvis Sormus de Castro, Cassia Isabela Vilela de Abreu, Marco Aurelio Bortoni, Bernardo de Oliveira, Luciana Fernandes, Paula Cerantola, André Martins, Helena Onody, pela agradável convivência no dia-dia e trocas de ajuda e conhecimentos.

A meus pais, por me educarem com amor e coragem, me permitindo chegar até aqui.

Aos Amigos e familiares que muito me apoiaram para que eu chegasse até aqui, em especial meu padrinho Ruy Camargo, minha tia Maria Constança Figueiredo e a grande amiga Ingrid Menz.

Ao meu namorado parceiro e companheiro, Dante Cieto Ferreira, que me dá o sorriso necessário a seguir em frente dia após dia.

Muito Agradecida!



## Índice

Índice de Figuras.....	I
Índice de Tabelas.....	II
Resumo.....	III
Abstract.....	IV
<b>1. Introdução .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Agricultura do milho no Brasil e suas pragas associadas: .....</b>	<b>1</b>
<i>Spodoptera frugiperda</i> (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae).....	2
<b>1.2. Controle Biológico.....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Himenópteros Parasitoides.....</b>	<b>4</b>
<b>1.4. Ichneumonidae .....</b>	<b>5</b>
<b>1.5. Campopleginae.....</b>	<b>7</b>
<b>1.6. Gênero <i>Campoletis</i> Föster, 1869 (Figuras 6-7) .....</b>	<b>8</b>
<b>1.7. DNA <i>Barcoding</i>.....</b>	<b>11</b>
<b>2. Objetivos.....</b>	<b>12</b>
<b>2.1 Justificativas .....</b>	<b>12</b>
<b>3. Material e Métodos .....</b>	<b>13</b>
<b>3.1. Identificação do material:.....</b>	<b>14</b>
<b>3.2. Análises Moleculares:.....</b>	<b>18</b>
<b>4. Resultados e discussão.....</b>	<b>19</b>
<b>4.1. Análises Morfológicas: .....</b>	<b>19</b>
<b>4.2. Análises Moleculares .....</b>	<b>22</b>
<b>Comparação com outras espécies publicadas no BOLD (<i>Barcode of life data systems</i>).....</b>	<b>24</b>
<b>4.3. Redescrição de <i>Campoletis sonorensis</i> (Cameron, 1886) (Figs 19-41) .....</b>	<b>27</b>
<b>5. Conclusões .....</b>	<b>29</b>
<b>Referências Bibliográficas .....</b>	<b>30</b>
<b>Anexos.....</b>	<b>37</b>

## Índice de Ilustrações

<b>Figuras 1-2:</b> Asas Ichneumonidae. 1, Ichneumonidae, seta “a” indica nervura 1/Rs+M ausente, seta “c” indica a nervura 2m-Cu; 2, Braconidae, seta “b” indica nervura 1/Rs+M, seta “d” indica nervura 2m-cu ausente (FERNADÉZ; SHARKEY, 2006). .....	6
<b>Figuras 3-4:</b> Metassoma de Ichneumonidae. 3, Ichneumonidae, com tergitos II e III separados. 4, Braconidae, com tergitos II e III fundidos (FERNADÉZ; SHARKEY, 2006). .....	6
<b>Figura 5:</b> Campopleginae, vista lateral; detalhe para vista frontal da cabeça (GOULET; HUBER, 1993). .....	7
<b>Figura 6:</b> Adulto fêmea de <i>Campoletis</i> sp. (Hymenoptera, Ichneumonidae, Campopleginae). .....	9
<b>Figura 7:</b> <i>Campoletis</i> sp. Vista frontal de cabeça (Fotos: Luciana Fernandes). .....	9
<b>Figura 8:</b> Pontos de coleta do material estudado: Sete Lagoas, MG; Ribeirão Preto, SP e Santa Maria, RS, marcados em vermelho ( <a href="http://www.guiageo.com/brasil-mapa.htm">http://www.guiageo.com/brasil-mapa.htm</a> ). .....	13
<b>Figuras 9-10:</b> Terminologia das estruturas da cabeça de Ichneumonidae: 9, cabeça vista anterior; 10, cabeça vista posterior. 1, vértice; 2, fronte; 3: face; 4, espaço malar; 5, clipeo; 6, sulco entre a face e o clipeo; 7, fóvea clipeal; 8, labro; 9, órbita vertical; 10, órbita frontal; 11, órbita facial, 12, órbita temporal; 13, vértice; 14, occipício; 15, forame magno; 16 e 17, carena occipital; 17, carena genal; 18, carena oral; 19, têmpera (TOWNES, 1969). .....	15
<b>Figura 11:</b> Asas anterior e posterior de Ichneumonidae. Asa Anterior, nervuras: AB, costa; CD, subcosta; EFG, metacarpo; HIJF, radio; LMNO, cúbito; PQRW, discoideo; CP, média; UV, submédia; VWX, braquial; BEH, estigma; DP, basal; IL, 1° intercubital; JN, 2° intercubital; QL, discocubital; K, râmulo; QR, 1ª recorrente; MS, 2ª recorrente; Y, bula; PV, nervulo; QRW, pós-nervulo. Asa Anterior, células: 1, radial; 2, mediana; 3, discocubital; 4, areolete; 5, 3ª cubital; 6, 2ª discoidal; 7, 3ª discoidal; 8, submediana; 9, 1ª braquial; 10, 2ª braquial; 11, anal. Asa Posterior, nervuras: ab, costela; cde, subcostela; ef, metacarpela; dgh, radiela; jkl, cubitela; mn, discoidela; kg, intercubitela; ij, mediela; op, submediela; pq, braquiela; bh, hâmulos basais; dh, hâmulos distais; rs, axila; jmp, nervelo. Asa Posterior, células: 12, costela; 13, radiela; 14, mediela; 15, cubitela; 16, discoidela; 17, submediela; 18, braquiela; 19, anela; 20, pos-anela (TOWNES, 1969). .....	16
<b>Figura 12:</b> Mesossoma de Ichneumonidae vistas lateral e dorsal: áreas, carenas e sulcos. Áreas: 1, lobo mediano do mesoscuto; 2, lobo lateral do mesoscuto; 1 e 2, mesoscuto; 3, escutelo; 4, pós-escutelo; 5, margem posterior do metanoto; 6, tégula; 7, ruga subtegular; 8, colar; 8,9,10, pronoto; 10, ângulo posterior do pronoto; 11,12,18, mesopleura; 12, espéculo; 13, mesepimero; 14, divisão superior da metapleura; 15, metapleura; 16, área justacoxal; 17, propleura; 18, prepecto; 19, mesosterno; 20, coxa anterior; 21, coxa mediana; 22, coxa posterior; 23-28, propódeo; 23, 1ª área lateral; 24, 2ª área lateral; 25, 3ª área lateral; 26, 1ª área pleural; 27, 2ª área pleural; 28, 3ª área pleural; 29, espiráculo propodeal; 30, área basal; 31, aréola; 32, área peciolar; 33, sulco axilar do mesonoto; 34, sulcoaxilar do metanoto. Carenas e sulcos: A, notáulice; B, epomia; C, carena prepectal; D, fóvea mesopleural; E, sutura mesopleural; F, esternáulo; G, carena prospectal; H, carena justacoxal; I, carena submetapleural; J, carena pleural; K, carena lateral longitudinal; L, carena mediana longitudinal; M, carena basal transversa; N, carena apical transversa; O, apófise propodeal ou crista; P, cóstula (TOWNES 1969). .....	17
<b>Quadro 1:</b> Variações morfológicas encontradas entre as morfoespécies de <i>Campoletis</i> sp. (Hymenoptera, Ichneumonidae, Campopleginae) de três regiões do Brasil. ....	20

<b>Figura 13:</b> Árvore de verossimilhança dos morfogrupos de <i>Campoletis</i> , com base em parte da sequência do gene COI, usando o modelo <i>Tamura 3-parameter</i> para espécimes de <i>Campoletis</i> sp. (Hymenoptera, Ichneumonidae, Campopleginae) de três regiões do Brasil. ....	23
<b>Figura 14:</b> Árvore de máxima verossimilhança dos morfogrupos de <i>Campoletis</i> , com base em parte da sequência do gene COI, usando o modelo <i>Kimura-2-parameter</i> para espécimes de <i>Campoletis</i> sp. (Hymenoptera, Ichneumonidae, Campopleginae) de três regiões do Brasil. ....	23
<b>Figura 15:</b> Árvore de máxima verossimilhança incluindo os dados dos espécimes estudados e os obtidos no BOLD, com base em sequências do gene COI, usando o modelo <i>Tamura-3-parameter</i> ....	24
<b>Figuras 16-23:</b> 16, <i>Campoletis sonorensis</i> homótipo fêmea, seta vermelha indicando coloração da coxa média ; 17, holótipo de <i>C. sonorensis</i> , seta azul indicando ausência de mancha na base do fêmur posterior e seta preta coloração da tíbia posterior; 18, <i>Campoletis flavicincta</i> lectotipo macho, seta vermelha indicando coloração da coxa média e seta azul indicando presença de mancha na base do fêmur posterior; 19, <i>C. sonorensis</i> hábito vista lateral; 20, <i>C. sonorensis</i> cabeça, vista frontal; 21, 22, 23, <i>C. sonorensis</i> mesosoma vista ventral , flechas indicando a variação na coloração das pernas. ....	38
<b>Figuras 24-31:</b> <i>C. sonorensis</i> . 24,coxa posterior, vista ventral, seta vermelha indicando coloração da coxa posterior; 25, fêmur posterior, vista dorsal, seta vermelha indicando ausência de mancha; 26, fêmur posterior, seta vermelha indicando mancha em toda região dorsal ; 27, fêmur posterior, seta vermelha indicando a presença da mancha na base e tíbia média em vista lateral, com variação na coloração realçada por traço preto; 28, tíbia média em vista lateral com variação na coloração realçada por traço preto; 29, tíbia posterior em vista dorsal com variação na coloração realçada por traço preto; 30, tíbia posterior em vista lateral com variação na coloração realçada por traço preto; 31, metasoma vista dorsal. ....	39
<b>Figuras 32- 33:</b> <i>C. sonorensis</i> , asas anteriores, com atenção para areoleta. ....	40
<b>Figuras 34-41:</b> <i>C. sonorensis</i> . 33, mesoscuto vista dorsal; 35 - 36, pronoto vista lateral; 37- 38, mesopleura vista lateral; 39, 40, 41, propódeo vista dorsal. ....	41

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1:</b> Dados das coletas .....	19
<b>Tabela 2:</b> Regiões informativas e variáveis e composição média dos nucleotídeos do gene COI sequenciado para espécimes de <i>Campoletis</i> sp. (Hymenoptera, Ichneumonidae, Campopleginae) de três regiões do Brasil. ....	22
<b>Tabela 3:</b> Matriz de divergência genética utilizando Kimura-2-parameter para espécimes de <i>Campoletis</i> sp. (Hymenoptera, Ichneumonidae, Campopleginae ) de três regiões do Brasil.....	22
<b>Tabela 4:</b> Distâncias genéticas entre espécimes de <i>Campoletis</i> sp. (Hymenoptera, Ichneumonidae, Campopleginae) de três regiões do Brasil e a base de dados do BOLD. ....	26

## Resumo

*Spodoptera frugiperda* (SMITH, 1797) é uma praga voraz de diversas culturas de importância econômica no Novo Mundo. No Brasil, suas larvas podem ser atacadas por diversas espécies de vespas parasitóides que são candidatos a agentes de controle biológico contra essa praga. Pesquisando os parasitóides da fauna de *Spodoptera frugiperda* em cultivos de milho no Brasil, duas espécies do gênero *Campoletis*, muito similares morfologicamente, foram encontradas.

Para garantir a eficiência dos trabalhos de controle biológico, é de grande importância o conhecimento taxonômico das espécies relacionadas.

Exemplares de *Campoletis* emergidos de *Spodoptera frugiperda* foram estudados morfológica e molecularmente, a fim de resolver os problemas taxonômicos existentes entre as espécies *C. sonorensis* (CAMERON, 1886) e *C. flavicincta* (ASHMEAD, 1890). Os exemplares foram provenientes de três regiões do Brasil: Santa Maria, RS; Ribeirão Preto, SP; Sete Lagoas, MG. Fotos de material tipo das duas espécies foram estudadas, além das suas descrições originais.

Os resultados indicam uma possível sinonímia entre as duas espécies, para a qual será usado o nome *C. sonorensis* com base na lei da prioridade para o nome das espécies. Apresentamos uma redescrição para *Campoletis sonorensis* usando caracteres morfológicos e de *DNA Barcoding*.

Palavras-chave: agricultura, biologia molecular, importância econômica, morfologia, taxonomia.

## Abstract

The fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (SMITH, 1797) is a voracious pest of numerous crops of economic importance throughout the New World. In Brazil, their larvae can be attacked by several species of parasitic wasps, which are candidate to biological control agents against this pest. Surveying the parasitoid fauna on *S. frugiperda* in maize throughout Brazil two very morphological similar species of *Campoletis* are found.

To ensure the efficiency of the biological control works, the knowledge about the taxonomy of the species related is necessary.

*Campoletis* specimens emerged from *Spodoptera frugiperda* were studied morphologically and molecularly, in order to solve taxonomic problems among *C. sonorensis* (CAMERON, 1886) and *C. flavicincta* (ASHMEAD, 1890). The samples came from three regions of Brazil: Santa Maria, RS; Ribeirão Preto, SP; Sete Lagoas, MG. Pictures from the type material of the two species were studied, besides the original descriptions of them.

A possible synonymy is indicated between the both species, for which the name *C. sonorensis* will be used based on the priority law for species names. A redescription is made to *Campoletis sonorensis* from Brazil, using morphological characters and DNA Barcoding.

Key-words: agriculture, molecular biology, economic importance, morphology, taxonomy.

# **1. Introdução**

## **1.1 Agricultura do milho no Brasil e suas pragas associadas:**

Desde a colonização, a principal base da economia do Brasil é a exportação de commodities. De acordo com a secretaria de Relações Internacionais do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, as exportações do agronegócio brasileiro em 2013 somaram 93,58 bilhões de dólares (BRASIL, 2013).

O modelo agrícola utilizado pelo país segue o agronegócio, que utiliza a mecanização e a industrialização do cultivo como formas de aumentar a produtividade e consequentemente os lucros. A industrialização da agricultura é um processo que tem em vista o modo empresarial e capitalista de produção, envolvendo uma desconexão extrema da agricultura com a natureza e com as localidades, através da progressiva substituição dos fatores naturais (fertilidade do solo, predadores, culturas locais) pelos fatores tecnológicos (agrotóxicos, herbicidas, biotecnologia). Esse modelo tem levado a uma atual crise agrária e ambiental, uma vez que a alta produtividade tem deteriorado a base biofísica, o uso dos insumos químicos, degradado o solo, a água e a biodiversidade, além de tornar os custos da produção bastante altos (PLOEG, 2008). Os chamados pacotes agro-tecnológicos das multinacionais, além de exigirem um alto investimento financeiro, tornam os produtores dependentes das empresas uma vez que os organismos geneticamente modificados (OGM) são associados aos herbicidas de controle e também à cobrança de *royalties* na comercialização de seus produtos. Isso leva a uma consequente expulsão de pequenos agricultores do campo, que apesar de serem responsáveis por 70% da produção de alimentos do Brasil, não conseguem sobreviver a esse modelo.

Com relação ao cultivo do milho, o Brasil é considerado o terceiro maior produtor mundial auto-suficiente para o consumo interno (BRASIL, 2013). A área cultivada com o cereal no país para a safra de 2012/2013 foi estimada em 14.743,6 mil hectares com produtividade de 72.192,5 t (CONAB, 2013). Dessa produção, mais de 80% é destinada para o consumo interno, especialmente como matéria prima para a indústria de rações para

alimentação animal, o que torna o cereal um importante insumo nas cadeias produtivas de aves (postura e corte), bovinos (leite e corte) e suínos (CARVALHO et al., 2011). Além do aspecto econômico, o cultivo do milho possui importante papel em âmbito social, pois sua produção é exercida em mais de 5 mil municípios brasileiros, além dos demais envolvidos nas cadeias produtivas relacionadas (BRASIL, 2008).

Apesar dessa importância, o cultivo do milho é um dos setores onde mais se nota insatisfação por parte dos agricultores quanto à lucratividade (SADRI, 2008). Além dos problemas relacionados aos custos de produção, outro importante motivo é a perda devido à ocorrência de pragas, que podem reduzir a produção em até 72% (CRUZ; TURPIN, 1982). Dentre as pragas estão o curuquerê- dos- capinzais (*Mocis latipes*), broca da cana (*Diatraea sacharalis*), cigarrinha do milho (*Dalbulus maidis*) entre outras, sendo a principal praga a lagarta- do- cartucho (*Spodoptera frugiperda*).

### ***Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)**

*Spodoptera frugiperda*, comumente conhecida como “lagarta- do- cartucho”, é uma das principais pragas do milho em toda América e a principal praga para essa cultura no Brasil. Ataca preferencialmente as gramíneas, porém além do milho, pode atacar mais de 50 espécies de plantas de diferentes culturas de interesse econômico, como o algodão, o arroz, o sorgo, a alfafa, o feijão, o amendoim, a batata, a couve (CRUZ, 1995).

É originária das regiões tropicais, ocorrendo em toda América (METCALF, 1962), no Brasil foi registrada em treze Estados (LUCCHINI, 1977).

Os ovos, de coloração verde clara, são colocados nas faces inferior e superior das folhas, depositados geralmente em grupos de duas camadas em uma média de 100- 179 ovos/postura. Uma única fêmea chega a realizar 13 posturas (CRUZ, 1995, 2008; LEIDERMAN; SAUER, 1953). A larva, de 35 mm de comprimento, é de coloração que varia entre verde escuro até quase preta. Apresenta três linhas longitudinais estreitas de coloração branco amarelado na região dorsal do corpo, lateralmente existe uma linha escura mais larga e abaixo dessa uma linha amarelada marcado de vermelho. São seis ínstaes larvais, com aproximadamente 10 dias ao total; as pupas ocorrem no solo, são de coloração avermelhada com cerca de 15 mm de comprimento e a duração dessa fase é de 14 dias (SARMENTO et al., 2002). O ciclo total dura cerca de 30 dias no verão, podendo chegar a até 50 dias nos meses

mais frios (CRUZ, 1995, 2008). Os adultos possuem hábito noturno, com 35 mm de envergadura, coloração cinza nas asas anteriores e brancas acinzentada nas asas posteriores (GALLO et al., 1988).

Ao atacarem as plantas, as lagartas reduzem a área foliar e assim a capacidade fotossintética da planta. Nos milharais, ataca preferencialmente o cartucho do milho consumindo grande parte das folhas antes da abertura dessas. Se o ataque ocorrer nos primeiros estágios da cultura, poderá levar a planta à morte reduzindo o número de plantas por hectare (WAQUIL et al., 1982). As larvas podem ainda se alimentar do colmo, seccionar a base da planta, atacar o pedúnculo da espiga, impedindo a formação de grãos, ou ainda atacar diretamente a espiga (CRUZ, 1995, 2008). As perdas na produção por ataques desta larva podem chegar a 73% (CRUZ; TURPIN, 1982; CRUZ et al., 1999; HRUSKA; GOULD, 1997; FIGUEIREDO; PENTEADO-DIAS; CRUZ, 2006).

O controle tem sido feito por meio da pulverização de inseticidas (LIMA; ZANUNCIO, 1976; WAQUIL, et al., 1982; VIANA; PRATES, 2003), porém populações resistentes aos inseticidas já foram relatadas (DIEZ- RODRÍGUEZ; OMOTO, 2001; YU; NGUYEN; ABO-ELGHAR, 2003). Entre as alternativas para a contenção dessa praga está o controle biológico, o qual corresponde ao uso de inimigos naturais, como predadores, patógenos, parasitas e parasitoides, sobre as diferentes fases de vida do inseto praga (SALLES, 1995).

## **1.2. Controle Biológico**

Um dos graves problemas ambientais em decorrência da mecanização do campo e o uso de insumos químicos é a devastação dos organismos considerados topo de cadeia. A ausência de inimigos naturais tem levado a um constante aumento dos insetos fitófagos, o que tem sido um dos fatores limitantes à produtividade do milho. A utilização irracional de inseticidas causa maior contaminação ambiental, destruição de inimigos naturais, e elevação nos custos de controle da praga, além de selecionar as populações de pragas resistentes, o que leva a um ciclo vicioso tornando o agroecossistema cada vez mais dependente dessa prática (GEORGHIOU, 1983; CROFT, 1990). Uma alternativa a esse modelo é o controle biológico de pragas, que através do uso de inimigos naturais, mantém as populações de insetos-praga em níveis toleráveis (VILELA et al., 1998). O controle biológico



de pragas tem por objetivo a proteção do meio ambiente, a maximização dos benefícios sociais, a minimização da dependência de energia não renovável, a otimização do uso dos recursos naturais e socioeconômicos disponíveis e o respeito à integridade cultural das comunidades rurais, favorecendo a sustentabilidade (NEVES et al., 2006).

Os himenópteros parasitóides são importantes controladores de populações de larvas de Lepidoptera, pois essas são pouco protegidas ainda que estejam enroladas nas folhas. Os lepidópteros possuem alta taxa de produtividade quando comparado com outras ordens de insetos, sendo o recurso mais abundante, em termos de biomassa (FERNANDEZ; SHARKEY, 2006).

Entre os Hymenoptera parasitoides que atacam *S. frugiperda* estão: *Chelonus insularis* Cresson, 1865 (Hymenoptera: Braconidae, Cheloninae) (ABLES; VINSON, 1981; ASHLEY et al., 1983; RAJAPAKSE, et al., 1991; REZENDE, et al., 1994), *Apanteles marginiventris* Cresson, 1865 (Hymenoptera: Braconidae, Microgastrinae) (ASHLEY et al., 1983; RAJAPAKSE, et al., 1991), *Diapetimorpha introita* (Cresson, 1872) (Hymenoptera: Ichneumonidae, Cryptinae) e *Cryptus albitarsis* (Cresson, 1864) (Hymenoptera: Ichneumonidae, Cryptinae)(PAIR; GROSS, 1989), *Telenomus remus* Nixon, 1937 (Hymenoptera: Platigastroidea) (WADDIL; WHITCOMB, 1982), *Trichogramma spp* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), *Campolepis spp* (Hymenoptera: Ichneumonidae, Campopleginae) (MOREY 1971; ASHLEY, 1983; ISENHOUR, 1985, 1986; ISENHOUR; WISEMAN, 1989; McCUTCHEON, 1991).

### 1.3 Himenópteros Parasitoides

Correspondem ao grupo de maior riqueza dentro da ordem Hymenoptera, a qual é uma das quatro ordens de insetos consideradas megadiversas com cerca de 115 mil espécies descritas (HANSON; GAULD, 2006). Reúne insetos popularmente conhecidos como vespas, formigas e abelhas que possuem importância ecológica e econômica, por serem polinizadores e agentes de controle biológico (FERNANDEZ; SHARKEY, 2006).

Caracterizam-se por serem insetos holometábolos, com peças bucais mastigadoras, com quatro asas membranosas, acopladas com amulos, sendo as posteriores menores que as anteriores. Os Hymenoptera parasitoides possuem um ovipositor, que em

alguns grupos perdeu a função de depositar ovos, evoluindo para um aguilhão (HANSON; GAULD, 1995).

Os parasitoides atacam quase todas as ordens de insetos, além de outros artrópodos como aranhas (Araneae), ácaros (Acarina) e pseudoescorpiões (Pseudoescorpionida) (FERNADÉZ; SHARKEY, 2006). Atuam como reguladores naturais dessas populações, servindo também como bioindicadores do grau de preservação do ecossistema. São, portanto, essenciais para a manutenção do equilíbrio ecológico contribuindo para a diversidade de outros organismos (LASALLE; GAULD, 1993; GRISSEL, 1999).

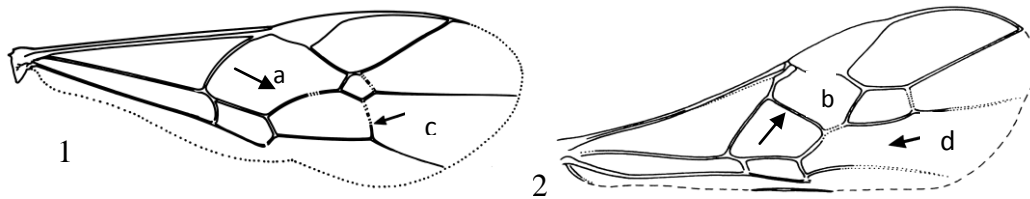
Podem ser classificados como ectoparasitoides, que possuem o desenvolvimento larval externo ao hospedeiro e alimentam-se através de lesões no seu tegumento ou endoparasitoides, que se desenvolvem e alimentam-se no interior do hospedeiro. Podem ser classificados também em idiobiontes ou cenobiontes. O parasitoide idiobionte é aquele em que o hospedeiro apresenta pouco ou nenhum desenvolvimento após ter sido parasitado. Neste caso, o parasitoide eclode do ovo logo após sua oviposição e geralmente a fêmea imobiliza o hospedeiro. O cenobionte é aquele em que a oviposição não impede que o desenvolvimento do hospedeiro continue e a larva somente o mata posteriormente. Tipicamente, os parasitoides cenobiontes atrasam um pouco seu desenvolvimento, eclodindo do ovo no primeiro instar larval, quando migra para um lugar mais protegido dentro do hospedeiro, até que este alcance um estágio mais avançado de crescimento e desenvolvimento. Os idiobiontes podem ser ectoparasitoides ou endoparasitoides, enquanto que os cenobiontes normalmente são endoparasitoides (FERNADÉZ; SHARKEY, 2006).

#### **1.4 Ichneumonidae**

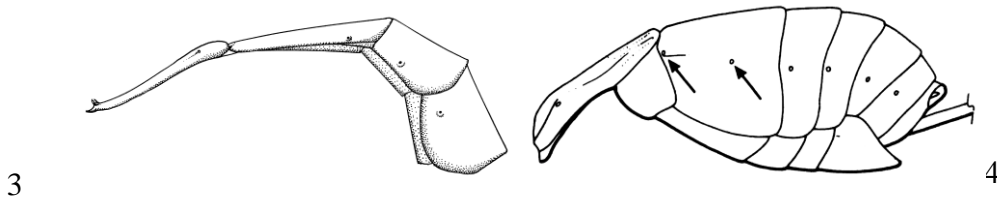
Juntamente com os Braconidae pertencem à superfamília Ichneumonoidea, formando um grupo monofilético baseado principalmente pela fusão das nervuras C e R das asas anteriores (Figuras 1-2) (SHARKEY; WAHL, 1992; DOWTON; AUSTIN, 1994).

Ichneumonidae se diferencia morfológicamente de Braconidae pela nervação da asa anterior, na qual a nervura 2m-cu é presente e tubular em Ichneumonidae (Figura 1c) e

ausente em Braconidae (Figura 2d). Além disso, em Ichneumonidae a nervura 1/Rs+M é ausente, formando a célula 1M+1R1 (Figura 1a), a qual é presente nos Braconidae (Figura 2b) e também se diferenciam pela junção do segundo e terceiro tergitos metassomais apenas nos Braconidae (SHARKEY, 1993) (Figuras 3 e 4)



**Figuras 1-2:** Asas Ichneumonoidae. 1, Ichneumonidae, seta “a” indica nervura 1/Rs+M ausente, seta “c” indica a nervura 2m-Cu; 2, Braconidae, seta “b” indica nervura 1/Rs+M, seta “d” indica nervura 2m-cu ausente (FERNADÉZ; SHARKEY, 2006).



**Figuras 3-4:** Metassoma de Ichneumonoidae. 3, Ichneumonidae, com tergitos II e III separados. 4, Braconidae, com tergitos II e III fundidos (FERNADÉZ; SHARKEY, 2006).

Os Ichneumonidae constituem um dos grupos mais diversos de todo planeta e possivelmente são a maior família dentre os animais (PORTER, 1980). Possuem cerca de 24.000 espécies descritas (YU; HORTSMANN, 2012) e estima-se que existam ao menos 100.000 (GAULD, et al., 2002 a). Possuem certa plasticidade na seleção de hospedeiros, podendo uma mesma espécie parasitar muitos gêneros, famílias e até mesmo ordens distintas de hospedeiros. Essa plasticidade na seleção de hospedeiros favorece a ampla distribuição da família (PORTER, 1980). Devido à abundância de espécies, sua ampla distribuição e importância potencial no controle biológico de pragas, muitos estudos têm sido desenvolvidos com esses insetos. Porém, é cada vez mais evidente que a magnitude dessa família é subestimada (GAULD, et al., 2002 a) e que se conhece muito pouco sobre sua biologia e sistemática ( TOWNES; TOWNES, 1966; TOWNES, 1969; GAULD, 1991).

As dificuldades taxonômicas se explicitam nas constantes e importantes mudanças quanto ao número de subfamílias incluídas na família. Gauld (1997) dividiu a família Ichneumonidae em 37 subfamílias, Goulet e Huber (1993) definiram 35 subfamílias, das quais 27 ocorrem na região neotropical, enquanto Hanson e Gauld (2006) citam 38 subfamílias, das quais 31 são da região neotropical.

### 1.5. Campopleginae

Campopleginae constitui uma ampla subfamília de Ichneumonidae, com cerca de 2102 espécies descritas (YU; HORSTMANN, 2012).

Caracteriza-se por apresentar clípeo geralmente não separado da face por um sulco; mandíbula bidentada; asa anterior com areolete aberta ou fechada; nervura 2m-cu com uma única bula; metassoma comprimido lateralmente, com primeiro segmento usualmente longo e delgado, com ou sem glima e espiráculo localizado na metade distal; garras tarsais freqüentemente pectinadas; ovipositor com entalhe subapical (Figura 5) (TOWNES, 1970; GAULD, 1984; GOULET; HUBER, 1993).



**Figura 5:** Campopleginae, vista lateral; detalhe para vista frontal da cabeça (GOULET; HUBER, 1993).

A maioria dos indivíduos dessa subfamília são endoparasitoides cenobiontes de larvas de Lepidoptera, mas também podem parasitar larvas de Symphyta e Coleoptera, sendo de grande importância em programas de controle biológico de pragas (ONODY, 2005).

Apesar de sua abundância e importância econômica há grande dificuldade na classificação do grupo e identificação de seus gêneros e espécies (GAULD, 1984). A problemática na classificação do grupo iniciou-se quando este era considerado uma tribo da subfamília Ophioninae, vindo apenas mais tarde adquirir a posição de subfamília (TOWNES, 1970; GUPTA; MAHERSWARY, 1977).

Em 1970, Townes reconheceu quatro tribos, Nonnini, Helwigiini, Campoplegini e Porizontini; em 1973, Townes e Townes aplicaram o nome Porizontini aos Campopleginae e, os antes considerados Porizontini, passaram a ser chamados de Macrini. Porém, essa classificação foi muito criticada por diversos autores, que incluíram Porizontini e Campopleginae em uma única tribo, originando, portanto três tribos: Campoplegini, Helwigiini e Nonnini (GAULD, 1984).

#### **1.6. Gênero *Campoletis* Förster, 1869 (Figuras 6-7)**

*Campoletis* é um gênero da subfamília Campopleginae amplamente distribuído, inclusive na região neotropical (YU et al., 2012). São de grande importância por parasitarem larvas de Lepidoptera de primeiro ínstar, principalmente Noctuidae (MOREY, 1971; PORTER, 1998; VIRLA et al., 1999).

Para a região neotropical existem seis espécies descritas: *C. argentifrons* Cresson, 1864; *C. chlorideae* Uchida, 1957; *C. grioti* Blanchard, 1946; *C. cauvicauda* López Cristóbal, 1947; *C. flavicincta* Ashmed, 1890 e *C. sonorensis* Cameron, 1886.

O parasitismo de espécies de *Campoletis* sobre *Spodoptera frugiperda* foi constatado em *C. grioti* (ASHLEY, 1983), *C. flavicincta* (CRUZ, 1995) e em *C. sonorensis* (ISENHOOR, 1985; 1986; ISENHOOR; WISEMAN, 1989). No Brasil, estudos mostraram que o parasitismo de *S. frugiperda* por *C. flavicincta* reduz o consumo foliar da larva para 6,9% em relação ao consumo de lagartas sadias (CRUZ, et al., 1997). Esse parasitóide ataca principalmente larvas de 2 a 3 dias, colocando seus ovos dentro do hospedeiro. O ciclo de

vida dura em média 23 dias, podendo uma única fêmea parasitar 358 larvas de *S. frugiperda* (CRUZ et al., 1995).

Os adultos caracterizam-se por possuírem corpo moderadamente delgado, olhos fracamente emarginados, margem apical do clípeo com dente mediano curto ou vestigial, propódeo moderadamente longo, área superomedia usualmente alongada, hexagonal, espiráculo propodeal subcircular, areolete presente, nervura 2m-cu basal à nervura M, asa posterior com nervura cu-a interceptada, primeiro segmento metassomal com sutura subventral separando tergito e esternito glima presente, ovipositor 1.6-3.5 vezes a altura do apice do metassoma (ONODY, 2005).



**Figura 6:** Adulto fêmea de *Campoletis* sp. (Hymenoptera, Ichneumonidae, Campopleginae).



**Figura 7:** *Campoletis* sp. Vista frontal de cabeça (Fotos: Luciana Fernandes).

Os problemas taxonômicos do grupo existem há muitos anos. *C. flavicineta* apresenta diversas sinonímias: *Amorphota nocturna* (Viereck, 1905); *Limnerium prodeniae* (Viereck, 1911); *Limnerium perdistincta* (Viereck, 1905); *Sagaritis trochanteralis* (Viereck, 1925); *Sagaritis modestus* (Viereck, 1925); *Sagaritis twinni* (Viereck, 1925). Para *C. sonorensis* foi citada uma sinonímia: *Limnerium websteri* (Viereck, 1910) (YU et al., 2012).

*C. flavicineta* e *C. sonorensis* são duas espécies constantemente confundidas entre si. Além da semelhança morfológica entre elas, *C. sonorensis* e *C. flavicineta* possuem biologia e distribuição muito semelhantes. *C. sonorensis* ocorre em: Bermuda, Brasil, Chile, Honduras, México e Estados Unidos; seus hospedeiros são: *Anthocharis midea* (Hubner, [1809]) (Lepidoptera, Pieridae), *Autographa californica* (Speyer, 1875) (Lepidoptera: Noctuidae), *Colias eurytheme* Boisduval, 1832 (Lepidoptera, Pieridae), *Copitarsia incommode* (Walker, 1865) (Lepidoptera, Noctuidae), *Eoreuma loftini* (Dyar, 1917) (Lepidoptera, Crambidae), *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera, Noctuidae), *Heliothis phloxiphaga* Grote & Robinson, 1867 (Lepidoptera, Noctuidae), *Heliothis virescens* (Fabricius, 1777) (Lepidoptera, Noctuidae), *Hypena scabra* (Fabricius, 1798) (Lepidoptera, Erebidae), *Peridroma saucia* (Hübner, [1808]) (Lepidoptera, Noctuidae), *Pseudoplusia includes* (Walker, [1858]1857) (Lepidoptera, Noctuidae), *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) (Lepidoptera, Noctuidae), *Schinia bina* (Guenée, 1852) (Lepidoptera, Noctuidae), *Schinia chrysellus* (Grote, 1874) (Lepidoptera, Noctuidae), *Spodoptera exigua* (Hübner, [1808]) (Lepidoptera, Noctuidae), *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae), *Spodoptera ornithogalli* (Guenée, 1852) (Lepidoptera, Noctuidae), *Trichoplusia ni* (Hübner, [1803]) (Lepidoptera, Noctuidae) (Yu et al., 2012). *C. flavicineta* ocorre no Brasil, Canadá, Honduras, México, Nicarágua, Peru, Estados Unidos e Uruguai; os seus hospedeiros são: *Achyra rantalis* (Guenée, 1854) (Lepidoptera, Crambidae), *Agrotis ipsilon* (Hufnagel, 1766) (Lepidoptera, Noctuidae), *Agrotis subterranean* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera, Noctuidae), *Colias eurytheme* Boisduval, 1832 (Lepidoptera, Pieridae), *Dargida procinctus* (Grote, 1873) (Lepidoptera, Noctuidae), *Euxoa messoria* (Harris, 1841) (Lepidoptera, Noctuidae), *Helicoverpa armigera* (Hübner, [1809]) (Lepidoptera, Noctuidae), *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera, Noctuidae), *Heliothis virescens* (Fabricius, 1777) (Lepidoptera, Noctuidae), *Hypena scabra* (Fabricius, 1798) (Lepidoptera, Erebidae), *Lacinipolia stricta* (Walker, 1865) (Lepidoptera, Noctuidae), *Manduca quinquemaculata* (Haworth, 1803) (Lepidoptera, Sphingidae), *Ostrinia nubilalis* (Hübner, 1796) (Lepidoptera, Crambidae), *Phthorimaea operculella* (Zeller, 1873) (Lepidoptera, Gelechiidae), *Pieris rapae* (Linnaeus,

1758) (Lepidoptera, Pieridae), *Pseudaletia sequax* Franclemont, 1951 (Lepidoptera, Noctuidae), *Pseudaletia unipuncta* (Haworth, 1809) (Lepidoptera, Noctuidae), *Sesamia inferens* (Walker, 1856) (Lepidoptera, Noctuidae), *Spodoptera eridania* (Stoll, 1782) (Lepidoptera, Noctuidae), *Spodoptera exigua* (Hübner, [1808]) (Lepidoptera, Noctuidae), *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae), *Spodoptera ornithogalli* (Guenée, 1852) (Lepidoptera, Noctuidae), *Syngrapha epigaea* (Grote, 1874) (Lepidoptera, Noctuidae), *Trichoplusia ni* (Hübner, [1803]) (Lepidoptera, Noctuidae), *Udea rubigalis* (Guenée, 1854) (Lepidoptera, Crambidae) (Yu et al., 2012).

Embora Carlson (1972) tenha estudado espécimes de *Campoletis* de toda a América, sinonimizando algumas espécies e diferenciando morfologicamente *C. sonorensis* de *C. flavicincta*, problemas de identificação das duas espécies continuam existindo. Por serem de grande utilidade para o controle biológico, é muito importante que elas possam ser distinguidas entre si.

### 1.7. DNA Barcoding

A taxonomia e a sistemática são de grande importância por permitirem que a partir da identificação da espécie, todos os outros estudos com o grupo sejam realizados. A identificação e a discriminação das espécies não é um trabalho simples, pois a plasticidade fenotípica e a variabilidade genética podem levar a erros de identificação, além de existirem espécies crípticas em diversos grupos, as chaves de identificação comumente contemplam apenas um estágio da vida do grupo (HEBERT, 2003).

A diversidade na seqüência de aminoácidos no gene Citocromo C oxidase subunidade 1 (COI) é uma ferramenta eficiente para categorizar taxonomicamente as espécies com segurança (HEBERT, 2003; SMITH, 2009; FLOYD, 2002). Os trabalhos de Hebert (2003) permitiram a discriminação de espécies de Lepidoptera intimamente relacionadas, um grupo com alta diversidade e moderadas taxas de evolução molecular. A utilização desse gene para identificação das espécies ficou conhecida como **DNA Barcoding**, que emprega a padronização do fragmento genômico, no caso, COI para espécies animais. Essa padronização pode ser usada para o reconhecimento de táxons, além de aumentar a velocidade, objetividade e eficiência das identificações (MEYER; PAULAY, 2005). Testes iniciais de *DNA barcoding*



mostraram que 658 pares de base de fragmento do gene mitocondrial COI são usualmente efetivos, provendo mais de 95% de resolução em nível específico (HEBERT et al, 2003, 2004a; HAJIBABAEI et al., 2006; SMITH et al., 2006). Hebert (2003) estudou cerca de 13000 pares de espécies congênicas, e mostrou que mais de 98% desse material possuem ao menos 2% de divergência entre suas sequências. O sucesso dos resultados depende de uma boa delimitação entre as variações intraespecíficas e interespecíficas (HEBERT et al., 2004b; MEYER; PAULAY, 2005). Por isso, a união das ciências taxonômica e molecular é necessária.

COI é um bom gene para discriminação das espécies, por possuir uma taxa de evolução molecular três vezes maior que genes ribossômicos, como 12s e 16s (FOLMER et al., 1994; ZHANG; HEWITT, 1997).

*Barcode of life data system (BOLD)* (RATNASINGHAM; HEBERT 2007), denomina uma biblioteca onde as sequências do gene COI são armazenadas. Possui atualmente mais de 1.4 milhões de sequências de 117 mil espécies.

## **2. Objetivos**

O objetivo desse trabalho foi caracterizar morfológica e molecularmente indivíduos do gênero *Campoletis* emergidos de lagartas de *Spodoptera frugiperda* coletadas em cultivos de milho em diferentes regiões do Brasil, a fim de estabelecer os limites entre as espécies *C. sonorensis* e *C. flavicineta*.

### **2.1 Justificativas**

As duas principais espécies de *Campoletis* que parasitam *S. frugiperda* no Brasil são *C. sonorensis* e *C. flavicineta*, estas são dificilmente identificadas e constantemente confundidas entre si.

A correta identificação e caracterização desses parasitoides são de grande importância ecológica e econômica para garantir a eficiência dos programas de controle biológico de pragas.

Programas de controle biológico de pragas eficazes reduzem o uso de insumos químicos no campo, diminuindo os custos da produção, a degradação da biodiversidade, a poluição das águas e do solo, contribuindo para uma melhor sustentabilidade no campo.

### 3. Material e Métodos

O material estudado é proveniente de três diferentes regiões do Brasil: Santa Maria, RS; Sete Lagoas, MG e Ribeirão Preto, SP.



**Figura 8:** Pontos de coleta do material estudado: Sete Lagoas, MG; Ribeirão Preto, SP e Santa Maria, RS, marcados em vermelho (<http://www.guiageo.com/brasil-mapa.htm>).

Em Santa Maria, RS, as coletas foram realizadas pelo pesquisador Vinicius Sturza, em três áreas do Departamento de Fitotecnia (DF) e de Defesa Fitossanitária (DFS), ambas situadas no Campus da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), latitude 29°42'23''S e 53°43'15''W.

Em Sete Lagoas, MG, as coletas foram realizadas pelo pesquisador Rafael Braga da Silva, nos campos experimentais da Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, MG, latitude 19°28'00''S e 44°15'00''W.

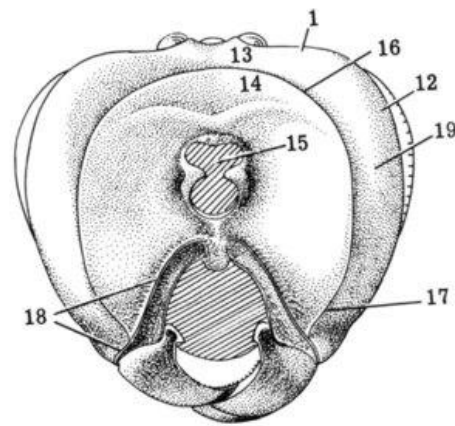
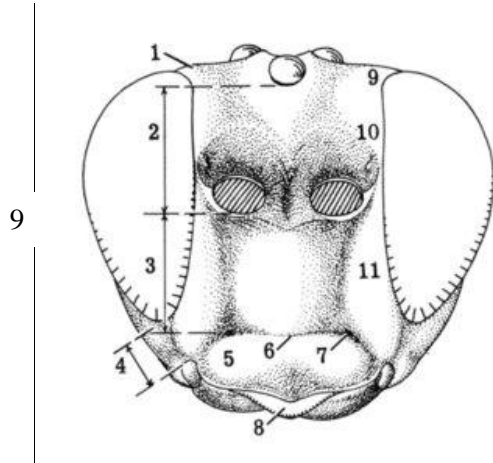
Em Ribeirão Preto, SP, as coletas foram realizadas pelo pesquisador Alexandre de Sene Pinto em áreas de cultivo de milho no Centro Universitário Moura Lacerda em Ribeirão Preto, latitude 21°10'42''S e 47°48'24''W.

### **3.1. Identificação do material:**

O gênero foi identificado baseado em Townes (1970), a caracterização das espécies seguiu as descrições originais das espécies *C. flavicincta* e *C. sonorensis*. Fotografias do material-tipo enviadas pelo Museu de História Natural de Londres, RU e pelo Museu Nacional de História Natural, Washington, DC, EUA, também foram utilizadas na identificação. Para descrição da espécie foi adotada a terminologia de Townes (1969), enquanto que a nomenclatura para a esculturação baseou-se em Eady (1968).

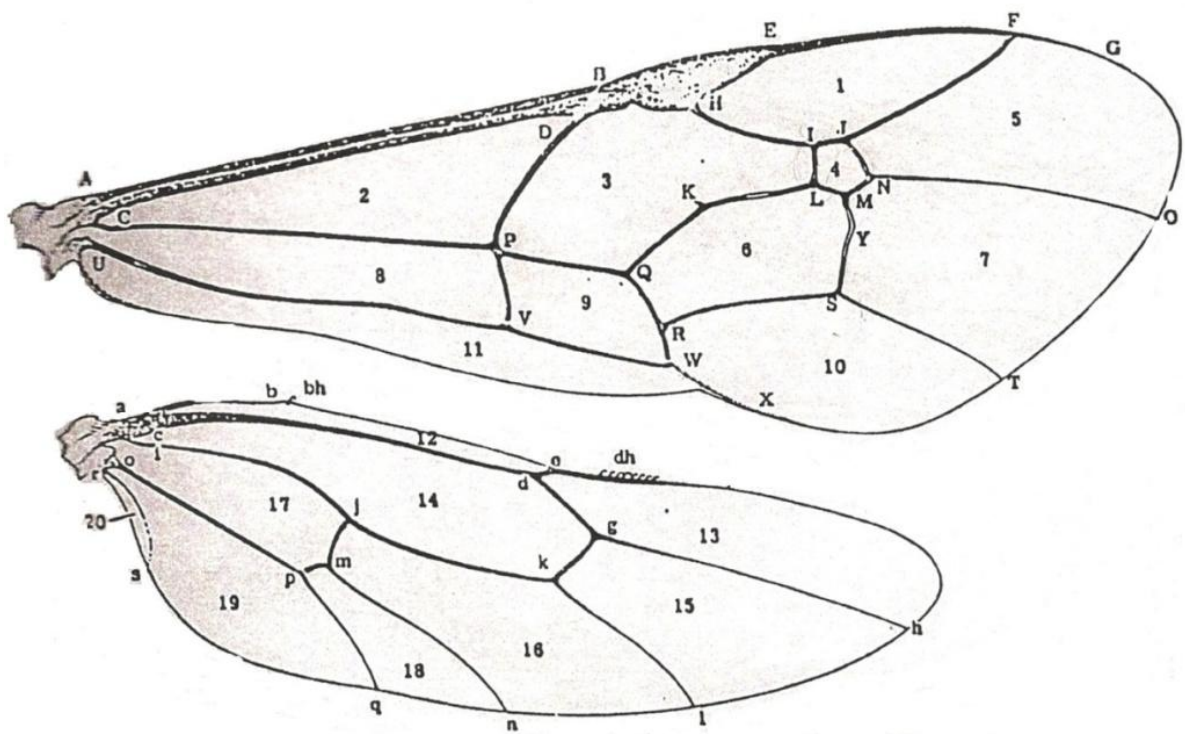
A ilustração das espécies incluiu fotografias obtidas em microscópio eletrônico FEI Quanta TM 250 operando em baixo vácuo. Fotografias digitais coloridas obtidas em estereomicroscópio Leica® Z16 APO-A com câmera Leica® DFC295/DFC290 HD, e editadas com o programa Leica application Suite®. Os espécimes estudados foram depositados na coleção Taxonômica do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brasil (DCBU)

Inicialmente os espécimes foram separados em sete grupos morfológicos diferentes denominados CM1, CM2, CM3, CM4, CM5, CM6 e CM7, onde CM significa “*Campoletis* morfotipo”.

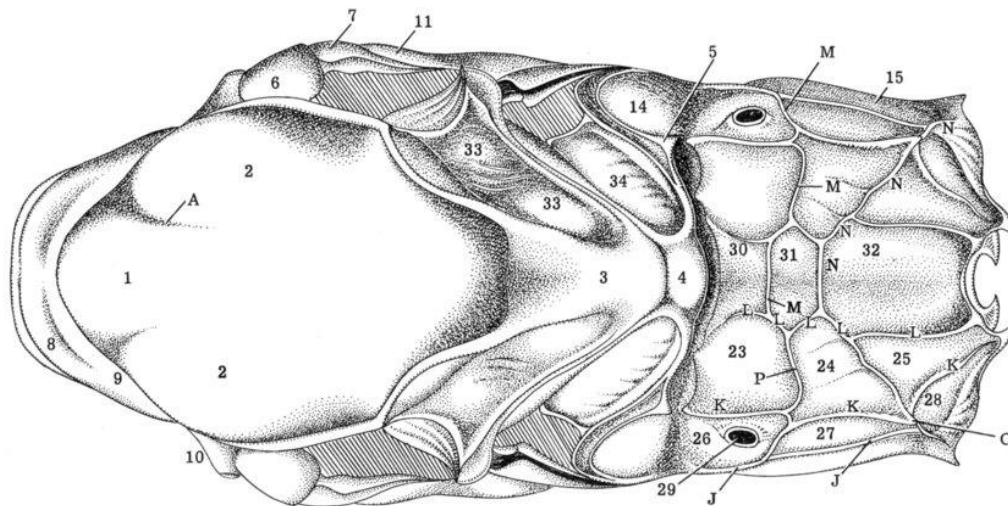
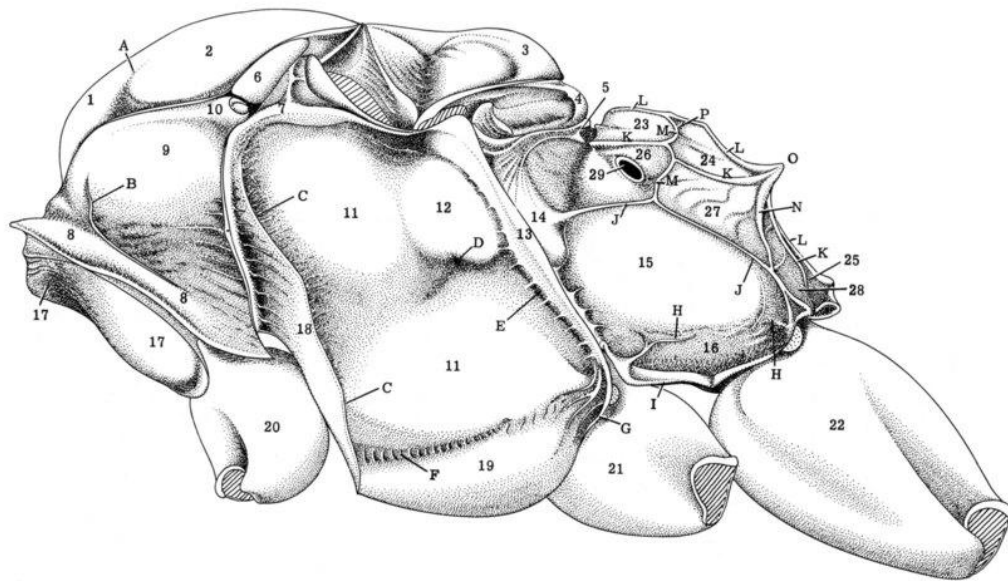


10

**Figuras 9-10:** Terminologia das estruturas da cabeça de Ichneumonidae: 9, cabeça vista anterior; 10, cabeça vista posterior. 1, vértice; 2, fronte; 3, face; 4, espaço malar; 5, clipeo; 6, sulco entre a face e o clipeo; 7, fóvea clipeal; 8, labro; 9, órbita vertical; 10, órbita frontal; 11, órbita facial; 12, órbita temporal; 13, vértice; 14, occipício; 15, forame magno; 16 e 17, carena occipital; 17, carena genal; 18, carena oral; 19, têmpora (TOWNES, 1969).



**Figura 11:** Asas anterior e posterior de Ichneumonidae. **Asa Anterior**, nervuras: AB, costa; CD, subcosta; EFG, metacarpo; HIJF, radio; LMNO, cúbito; PQRW, discoideo; CP, média; UV, submédia; VWX, braquial; BEH, estigma; DP, basal; IL, 1° intercubital; JN, 2° intercubital; QL, discocubital; K, râmulo; QR, 1ª recorrente; MS, 2ª recorrente; Y, bula; PV, nervulo; QRW, pós-nervulo. **Asa Anterior**, células: 1, radial; 2, mediana; 3, discocubital; 4, areolete; 5, 3ª cubital; 6, 2ª discoidal; 7, 3ª discoidal; 8, submediana; 9, 1ª braquial; 10, 2ª braquial; 11, anal. **Asa Posterior**, nervuras: ab, costela; cde, subcostela; ef, metacarpela; dgh, radiela; jkl, cubitela; mn, discoidela; kg, intercubitela; ij, mediela; op, submediela; pq, braquiela; bh, hâmulos basais; dh, hâmulos distais; rs, axila; jmp, nervulo. **Asa Posterior**, células: 12, costela; 13, radiela; 14, mediela; 15, cubitela; 16, discoidela; 17, submediela; 18, braquiela; 19, anela; 20, pos-anela (TOWNES, 1969).



**Figura 12:** Mesossoma de Ichneumonidae vistas lateral e dorsal: áreas, carenas e sulcos. **Áreas:** 1, lobo mediano do mesoscuto; 2, lobo lateral do mesoscuto; 1 e 2, mesoscuto; 3, escutelo; 4, pós-escutelo; 5, margem posterior do metanoto; 6, tégula; 7, ruga subtegular; 8, colar; 8,9,10, pronoto; 10, ângulo posterior do pronoto; 11,12,18, mesopleura; 12, espéculo; 13, mesepimero; 14, divisão superior da metapleura; 15, metapleura; 16, área justacoxal; 17, propleura; 18, prepecto; 19, mesosterno; 20, coxa anterior; 21, coxa mediana; 22, coxa posterior; 23-28, propódeo; 23, 1<sup>a</sup> área lateral; 24, 2<sup>a</sup> área lateral; 25, 3<sup>a</sup> área lateral; 26, 1<sup>a</sup> área pleural; 27, 2<sup>a</sup> área pleural; 28, 3<sup>a</sup> área pleural; 29, espiráculo propodeal; 30, área basal; 31, aréola; 32, área peciolar; 33, sulco axilar do mesonoto; 34, sulcoaxilar do metanoto. **Carenas e sulcos:** A, notáulice; B, epomia; C, carena prepectal; D, fóvea mesopleural; E, sutura mesopleural; F, esternáulo; G, carena prospectal; H, carena justacoxal; I, carena submetapleural; J, carena pleural; K, carena lateral longitudinal; L, carena mediana longitudinal; M, carena basal transversa; N, carena apical transversa; O, apófise propodeal ou crista; P, cóstula (TOWNES 1969).

### 3.2. Análises Moleculares:

O DNA de dois indivíduos de cada morfotipo foi extraído do abdômen ou de todo o corpo da vespa, utilizando o kit comercial de extração *DNeasy tissue kit* (QIAGEN) e ressuspendido em 100 *ul* do tampão de eluição.

O gene COI foi amplificado através dos *primers* LCO1490 e HCO 2198 (FOLMER et al., 1994). A reação em cadeia da polimerase (PCR) seguiu as condições: temperatura de desnaturação inicial de 94° C (1:30 min) seguido por 3 ciclos de desnaturação a 94° C (30s), temperatura de anelamento a 51° C (30 s), temperatura de alongamento a 72° C (1 min), seguido por 35 ciclos de desnaturação a 94° C (30s), temperatura de anelamento a 48° C (30 s), temperatura de alongamento a 72° (1 min), terminando com temperatura final de alongamento de 72° C por 5 minutos. O produto da PCR foi purificado usando PEG8000 (LIS & SCHLEIF, 1975) e sequenciado na Macrogen Inc. ABI 3010 (Seoul, Korea) usando os mesmos *primers*.

As sequências foram alinhadas usando o programa Bioedit 7.2. Uma árvore de máxima verossimilhança foi produzida através do programa MEGA 5.03 (TAMURA et al., 2011) usando o *Tamura- 3-parameter* (T92)(TAMURA, 1992), considerado o modelo de substituição de nucleotídeo mais apropriado para os nossos dados pelo teste hierárquico da razão de verossimilhança no programa MEGA 5.03 (- lnL= 283,68, BIC= 679,79, AIC= 597,63). Análises iniciais usaram 1000 pseudo-réplicas (FELSENSTEIN, 1985). As análises de *neighbour-joining* e das distâncias genéticas intra e interespecíficas foram baseadas no modelo *Kimura-2-parameter* (K2-P) (KIMURA, 1980) para facilitar a comparação com outros estudos de *Barcoding* e também foram calculados com MEGA 5.03. As sequências obtidas foram comparadas com toda base de dados para o grupo *Campoletis* existente no BOLD (*Barcode of Life Data System*) a fim de se verificar como nosso grupo de espécies seria definido quando comparado com outras espécies do gênero de outras regiões do mundo. As sequências foram selecionadas usando o mecanismo de identificação do BOLD. Apenas sequências publicadas também no *GeneBank* foram consideradas. Para todas essas análises foi utilizado o gênero *Dusona* como grupo externo, dada sua proximidade com o grupo em estudo.

Os espécimes que obtiveram seu DNA sequenciado estão depositados na Coleção Taxonômica do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brasil (DCBU), e as sequências publicadas no BOLD.

#### 4. Resultados e discussão

O material estudado (Tabela 1) foi identificado inicialmente como *Campoletis* sp.

Cada indivíduo foi comparado com as descrições originais e tiveram suas características morfológicas observadas e anotadas.

**Tabela 1:** Dados das coletas

Local	Coordenadas Geográficas	Data das Coletas	Número de Fêmeas	Número de machos	Número de indivíduos
Santa Maria, RS	29°42'23''S 53°43'15''W	Nov-dez/2010 e Jan-Fev/2011	194	227	421
Sete Lagoas, MG	19° 28' 00''S 44°15'00''W	Dez/2010- Mai/2011	9	12	21
Ribeirão Preto, SP	21°10'42''S 47°48'24''W	Fev- Mar/2005	7	2	9
<b>Total</b>					<b>451</b>

##### 4.1. Análises Morfológicas:

Os 451 espécimes estudados se aproximaram mais da descrição de *C. flavicineta* apesar de mostrarem certas diferenças morfológicas entre si. Essas diferenças os separaram em sete morfogrupos (CM1, CM2, CM3, CM4, CM5, CM6, CM7) e consistem principalmente em variações na coloração do pecíolo e das pernas, na esculturação do



pronoto, mesopleura e propódeo e nervação das asas (Quadro 1). Todas as variações encontradas mostraram-se contínuas entre o grupo (Figs 16-41).

**Quadro 1:** Variações morfológicas encontradas entre as morfoespécies de *Campoletis sp.* (Hymenoptera, Ichneumonidae, Campopleginae) de três regiões do Brasil.

caracter	c1.1.	c2.1.1	c3.1 e 3.2	c4.1	c5.1	c6.1	c7.1
escapo	preto	preto	preto ou marrom	preto	preto	preto	preto
base das coxas anterior e média	marrom escuro	laranja	laranja	preto	marrom escuro	marrom ou laranja	laranja
lateral externa das coxas anterior e média	marrom ou laranja	laranja	laranja	preto	marrom ou laranja	laranja	laranja
parte mediana das coxas anterior e média	marrom ou laranja	laranja	laranja	preta	marrom ou laranja	laranja	laranja
ápice das coxas anterior e média	laranja	laranja	laranja	marrom escuro	laranja	laranja	laranja
região ventral da coxa posterior	preto	preto	marrom ou preto	preto	preto	preto	preto
fêmur médio	às vezes com mancha preta	sem mancha preta	sem mancha preta	sempre com mancha preta	às vezes com mancha preta	sem mancha preta	sem mancha preta
região dorsal do fêmur posterior	laranja	laranja	laranja	laranja, ou marrom	laranja	laranja	laranja
mancha da base dorsal do fêmur posterior	forte, fraca, ou ausente	presente	ausente	presente	forte, fraca, ou ausente	presente	ausente
mancha da base ventral do fêmur posterior	presente	presente	ausente	presente	presente	presente	ausente
mancha ápice dorsal do fêmur posterior	forte, fraca ou ausente	ausente	ausente	forte, fraca ou ausente	forte, fraca ou ausente	ausente	ausente
base da tibia media	marrom claro	palha	palha	marrom claro	palha	marrom claro	palha

região mediana lateral da tibia média	palha	marrom-amarelado	marrom-amarelado	palha	marrom-amarelado	palha	marrom claro
região media da tibia posterior	palha discreta	palha	palha, às vezes discreta	palha, às vezes discreta	palha, às vezes discreta	palha	palha
região ventral da tibia posterior	marrom	marrom	marrom, alguns com faixa palha discreta	marrom	marrom, alguns com faixa palha discreta	marrom	marrom, alguns com faixa palha discreta
areolete	presente	ausente em pelo menos uma asa	presente	presente	presente	ausente em pelo menos uma asa	ausente em pelo menos uma asa
pronoto	varia de granulado à crenulado						
mesopleura	varia de lisa à levemente crenulada						
propódeo	areolete aberta, fechada, hexagonal ou arredondada						

Análises de imagens do material tipo de *C. sonorensis* e *C. flavicineta* (Figuras 16-18) mostrou a alta semelhança morfológica entre as duas espécies, além das variações morfológicas encontradas entre os espécimes.

Em 1972, Carlson diferenciou as duas espécies por características morfológicas, em especial da tibia posterior com áreas de coloração clara e escura em *C. sonorensis* pouco evidentes e bem aparentes em *C. flavicineta*. Esse autor também caracterizou a face de *C. flavicineta* como plana, e *C. sonorensis* com 1/3 a 1/4 da face convexa; clípeo de *C. flavicineta* mais truncado que em *C. sonorensis*; área peciolar côncava do propódeo mais evidente em *C. sonorensis*; ovipositor de *C. flavicineta* mais fortemente comprimido lateralmente e mais curvo para cima.

Com base no estudo de Carlson, os espécimes analisados estão morfolologicamente mais próximos de *C. flavicineta*. Por outro lado, ao analisarmos fotos do material– tipo, estas não corroboram as diferenças citadas pelo mesmo autor, principalmente com relação à tibia posterior (Figuras 16-17).

## 4.2. Análises Moleculares

O resultado do alinhamento das sequências mostrou 717 pares de base, das quais apenas nove regiões variaram, indicando apenas 1,25% de variação genética entre os sete morfogrupos, das quais nenhuma ocorreu em regiões informativas. As sequências se mostraram com altas quantidades de bases A-T, especialmente na terceira posição (Tabela 2).

**Tabela 2:** Regiões informativas e variáveis e composição média dos nucleotídeos do gene COI sequenciado para espécimes de *Campoletis* sp. (Hymenoptera, Ichneumonidae, Campopleginae) de três regiões do Brasil.

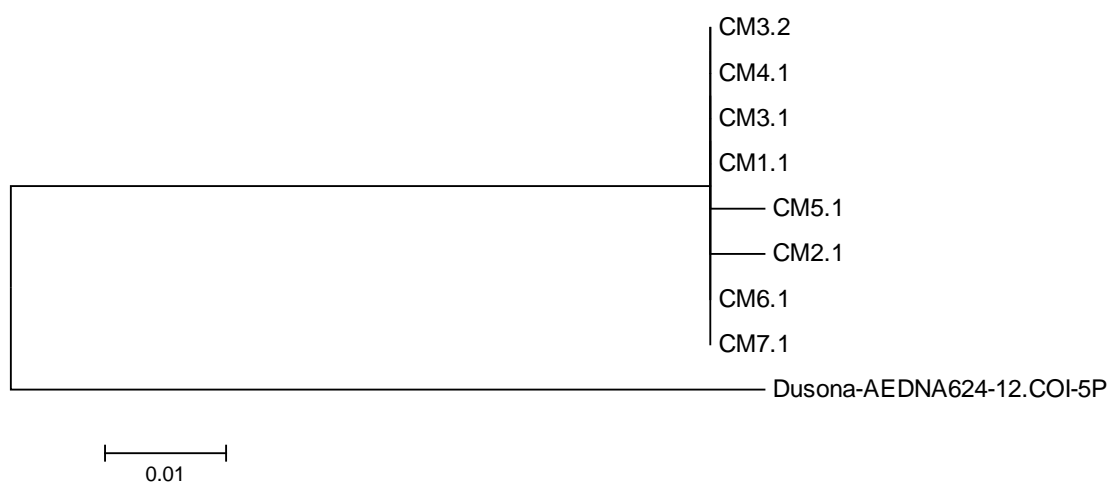
Posição do nucleotídeo	% Regiões variáveis	% Regiões informativas	% A	% C	% G	% T
1°	0,33	0	41,2	10,8	19,2	29
2°	0,11	0	19,2	22,4	13	45
3°	0,55	0	49,2	2,6	0,9	47
Todas	1,25	0	36,5	11,9	11	40,5

Análises das divergências genéticas, utilizando o modelo *Kimura-2 parameter*, também indicaram ausência de variação molecular, como se pode observar na tabela abaixo:

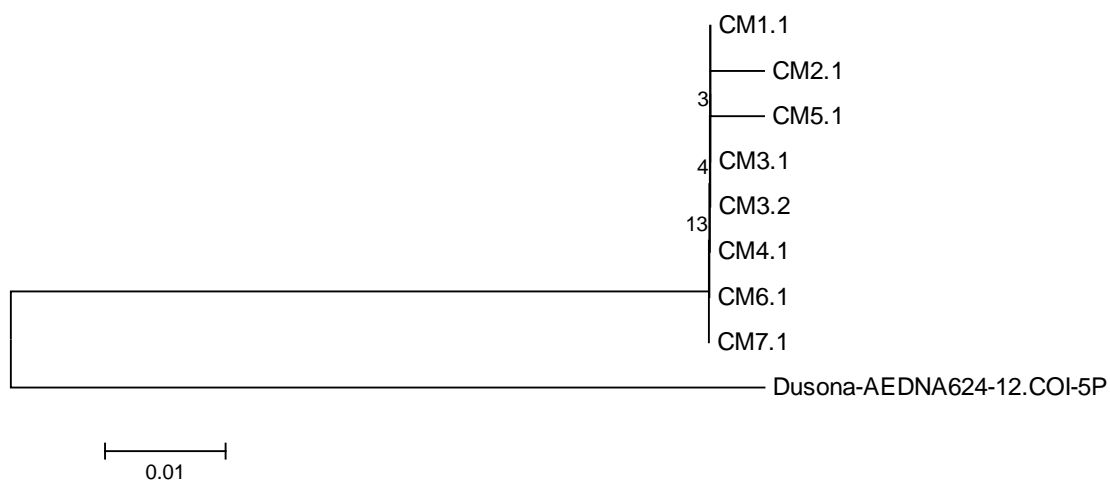
**Tabela 3:** Matriz de divergência genética utilizando Kimura-2-parameter para espécimes de *Campoletis* sp. (Hymenoptera, Ichneumonidae, Campopleginae ) de três regiões do Brasil.

	1	2	3	4	5	6	7	8
1. CM1.1								
2. CM2.1	0.004							
3. CM3.1	0.000	0.004						
4. CM3.2	0.000	0.004	0.000					
5. CM4.1	0.000	0.004	0.000	0.000				
6. CM5.1	0.004	0.009	0.004	0.004	0.004			
7. CM6.1	0.000	0.004	0.000	0.000	0.000	0.004		
8. CM7.1	0.000	0.004	0.000	0.000	0.000	0.004	0.000	

*Tamura -3- parameter* (T92) foi indicado como o melhor modelo estatístico para produção da árvore de verossimilhança (- lnL= 283,68, BIC= 679,79, AIC= 597,63) pelo programa MEGA 5.03. Para facilitar a comparação com outros trabalhos, foi aplicado o modelo *Kimura-2-parameter* (K2-P) (TAMURA, 1980) com 1000 réplicas para análises de máxima verossimilhança, como mostrado nas figuras abaixo:



**Figura 13:** Árvore de verossimilhança dos morfogrupos de *Campoletis*, com base em parte da sequência do gene COI, usando o modelo *Tamura 3-parameter* para espécimes de *Campoletis* sp. (Hymenoptera, Ichneumonidae, Campopleginae) de três regiões do Brasil.



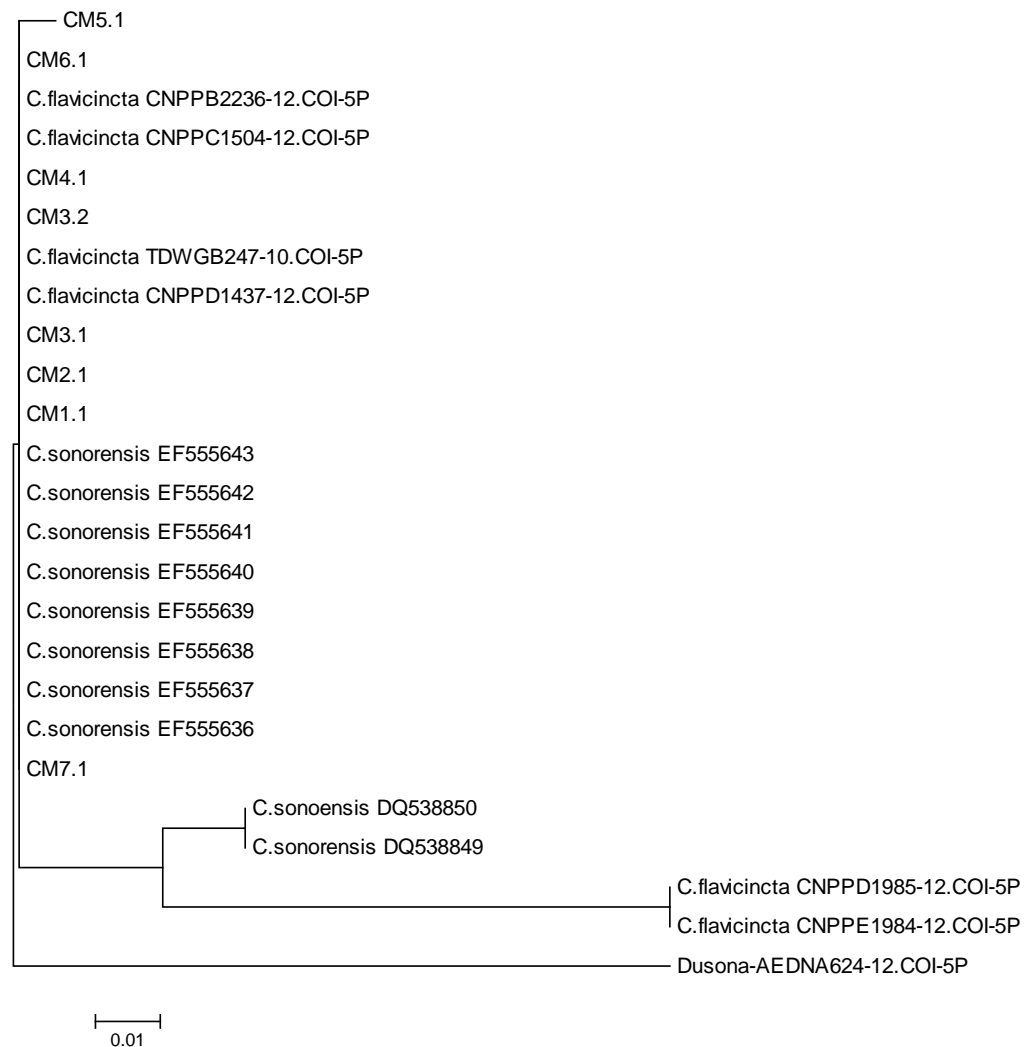
**Figura 14:** Árvore de máxima verossimilhança dos morfogrupos de *Campoletis*, com base em parte da sequência do gene COI, usando o modelo *Kimura-2-parameter* para espécimes de *Campoletis* sp. (Hymenoptera, Ichneumonidae, Campopleginae) de três regiões do Brasil.

Os resultados indicaram que as variações morfológicas encontradas entre os sete morfogrupos não caracterizam duas espécie, e portanto consistem em variações intraespecíficas

## Comparação com outras espécies publicadas no BOLD (*Barcode of life data systems*)

A fim de obter maior certeza da identificação da espécie, comparou-se os espécimes estudados com outros indivíduos do gênero *Campoletis* que já tiveram seu DNA sequenciado, utilizou-se o modelo *Tamura-3-parameter* para produzir a árvore de máxima verossimilhança (Figura 12).

Apenas sequências publicadas no BOLD e no *GeneBank* foram utilizadas.



**Figura 15:** Árvore de máxima verossimilhança incluindo os dados dos espécimes estudados e os obtidos no BOLD, com base em sequências do gene COI, usando o modelo *Tamura-3-parameter*.

Os espécimes analisados nesse estudo aparentemente possuem a mesma sequência genética, ou uma sequência muito semelhante, que indivíduos do BOLD identificados como *C. sonorensis* e como *C. flavicineta*. Além disso, dois grupos de sequências do BOLD, um identificado como *C. sonorensis* e outro como *C. flavicineta* são consideravelmente distintos das outras sequências. As distâncias genéticas indicaram 0.035 entre o grupo identificado como *C. sonorensis* e os espécimes estudados, 0.096 entre o grupo identificado como *C. flavicineta* e o grupo estudado, enquanto que a distância do grupo estudado ao grupo externo foi de 0.103, como mostra a tabela abaixo.

**Tabela 4:** Distâncias genéticas entre espécimes de *Campoletis* sp. (Hymenoptera, Ichneumonidae, Campopleginae) de três regiões do Brasil e a base de dados do BOLD.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25		
1. <i>Dusona</i> -AEDNA624-12.COI-5P																											
2. <i>C. sonorensis</i> EF555636	0.103																										
3. <i>C. sonorensis</i> EF555637	0.103	0.000																									
4. <i>C. sonorensis</i> EF555638	0.103	0.000	0.000																								
5. <i>C. sonorensis</i> EF555639	0.103	0.000	0.000	0.000																							
6. <i>C. sonorensis</i> EF555640	0.103	0.000	0.000	0.000	0.000																						
7. <i>C. sonorensis</i> EF555641	0.103	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000																					
8. <i>C. sonorensis</i> EF555642	0.103	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000																				
9. <i>C. sonorensis</i> EF555643	0.103	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000																			
10. <i>C. flavicincta</i> CNPPD1437-12.COI-5P	0.103	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000																		
11. <i>C. flavicincta</i> TDWGB247-10.COI-5P	0.103	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000																	
12. <i>C. flavicincta</i> CNPPC1504-12.COI-5P	0.103	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000																
13. <i>C. flavicincta</i> CNPPB2236-12.COI-5P	0.103	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000															
14. CM1.1	0.103	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000														
15. CM2.1	0.103	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000													
16. CM3.1	0.103	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000												
17. CM3.2	0.103	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000											
18. CM4.1	0.103	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000										
19. CM5.1	0.109	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006									
20. CM6.1	0.103	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000								
21. CM7.1	0.103	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000							
22. <i>C. flavicincta</i> CNPPE1984-12.COI-5P	0.177	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.102	0.096	0.096				
23. <i>C. flavicincta</i> CNPPD1985-12.COI-5P	0.177	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.102	0.096	0.096	0.000			
24. <i>C. sonorensis</i> DQ538849	0.122	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.040	0.035	0.035	0.090	0.090		
25. <i>C. sonoensis</i> DQ538850	0.122	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.040	0.035	0.035	0.090	0.090	0.000	

Esse resultado pode significar que *C. sonorensis* e *C. flavicineta* constituem uma sinonímia, e que os dois grupos de sequências diferentes são outras espécies mal identificadas.

Estudos das fotos do material-tipo não corroboram a diferenciação das espécies *C. sonorensis* e *C. flavicineta* feita por Carlson, pois se observa que a tíbia posterior do holótipo de *C. sonorensis*, apresenta regiões de claro e escuro nítidas (Figuras 16-17).

As variações morfológicas na coloração das coxas e do fêmur posterior também foram observadas no material-tipo (Figuras 16 e 18), e as análises moleculares comprovaram que estas variações são intraespecíficas.

Todos esses fatos somados à proximidade geográfica e biológica das duas espécies nos levam a propor uma possível sinonimização para as mesmas, porém um estudo mais amplo, abrangendo maior número de espécimes, inclusive de outras regiões geográficas seria necessário.

Com base nos dados dessa dissertação, propomos que para as regiões sul e sudeste do Brasil, *Campoletis sonorensis* deve ser considerado a espécie que parasita *Spodoptera frugiperda*, com base na lei da prioridade para os nomes das espécies. A fim de facilitar os futuros trabalhos de identificação de material proveniente dessas duas regiões, propomos uma redescrição da espécie.

#### **4.3. Redescrição de *Campoletis sonorensis* (Cameron, 1886) (Figs 19-41)**

Material examinado: 194 ♀♀; 227 ♂♂, “Brasil, Rio Grande do Sul, Santa Maria, Campus da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), 29°42’23”S e 53°43’15”W, 1/xi/2010-04/xii/2010 e 22/i/2011-22/ii/2011, Sturza,V. col.”; 7♀♀, 2♂♂, “Brasil, São Paulo, Ribeirão Preto, 21°10’42”S e 47°48’24”W, ii/2005-iii/2005, A. S. Pinto col.”; 9♀♀, 12♂♂, “Brasil, Minas Gerais, Sete Lagoas, Embrapa Milho e Sorgo, 19° 28’ 00”S 44°15’00”W, xii/2010-vi/2011, R. Braga col.”



Fêmea: comprimento, 4.0 – 6.0 mm. preta (Fig. 19), pedicelo algumas vezes marrom, mandíbulas amareladas com ápice marrom, palpos maxilares e labiais amarelo pálido (Fig. 20), coxas anterior e média variando entre inteira laranja amarelada (Fig. 21) a inteira preta (Fig. 22), mais comumente laranja amarelada com a base marrom (Fig. 23), coxa posterior preta (Fig. 23) algumas vezes com região ventral marrom (Fig. 24) quando o fêmur posterior é inteiro laranja. Fêmur posterior laranja (Fig. 25), variando com um anel marrom na base (Fig. 27), fraco ou inexistente dorsalmente; o ápice com mancha marrom dorsal forte, fraca ou inexistente. Em alguns espécimes que possuem todas as coxas pretas, o fêmur é marrom dorsalmente (Fig. 26); trocânteres e trocântelus anterior e médio amarelo pálido, trocânter posterior preto, trocântelus posterior amarelo pálido, fêmur e tíbia anteriores laranja, fêmur médio laranja (Fig. 21), às vezes com uma mancha marrom internamente na base (Fig. 22), principalmente quando as coxas anteriores e médias são pretas. Tibia média marrom claro, dorsal e lateralmente amarelo pálido da base à  $\frac{3}{4}$  do seu comprimento (Fig. 27) ou marrom claro, palha na base e na região mediana (Fig. 28); tibia posterior marrom variando com regiões amarelo pálido dorsalmente, na base e na região mediana (Fig. 29), lateralmente com uma faixa amarelo pálido interna e externamente (Fig. 30). Tarsos marrom claro a marrom. Metasoma preto, amarelo na região da tirídia e no ápice dos tergitos, principalmente a partir do segundo (Fig. 31); ventralmente amarelo pálido, às vezes com uma mancha marrom no terceiro esternito ou do segundo ao quinto. Antena com 29-31 segmentos, com pelos esbranquiçados, face plana coberta com pelos esbranquiçados, clipeo truncado com dente mediano (Fig. 20). Mesosoma pontuado coberto com pelos esbranquiçados (Fig. 34); pronoto varia entre granuloso (Fig. 35) a crenulado (Fig. 36); mesopleura, pontuada, lisa (Fig. 37) ou fracamente crenulada (Fig. 38) na parte mediana, a cima do esternáulo. Propódeo com areola aberta (Fig. 39) ou fechada e hexagonal (Fig. 40) ou arredondada (Fig. 41). A área peciolar é grosseiramente estrigosa (Fig. 39).

Asas hialinas, com cerdas, estigma e nervuras marrom. Areolete fechada, sempre peciolada, com a segunda nervura recorrente basal (Fig. 33); em alguns espécimes areolete aberta em uma ou nas duas asas (Fig. 32).

Macho: similar à fêmea.

## 5. Conclusões

Concluimos com este trabalho que as espécies *Campoletis sonorensis* e *Campoletis flavicineta* são difíceis de serem separadas morfológicamente e mal definidas molecularmente, o que torna sua identificação e diferenciação problemática.

A alta semelhança entre as duas espécies é constatada através dos estudos do material tipo, que mostrou alta similaridade morfológica, trazendo questionamentos em relação ao trabalho que as diferenciou morfológicamente.

Observamos também que características baseadas na coloração dos espécimes são pouco úteis na diferenciação das espécies de *Campoletis*.

Com base na lei da prioridade para os nomes das espécies, consideramos que para exemplares com morfologia concordante com a redescrição aqui apresentada, deva ser utilizado *Campoletis sonorensis* para os parasitoides de *Spodoptera frugiperda*.

Consideramos necessário um estudo mais amplo, utilizando um maior número de espécimes depositados em museus ou coletados em diferentes regiões, para resolver os dados de nomenclatura existentes para as duas espécies.

## Referências Bibliográficas

ABLES, J. R.; VINSON, S. B. Regulation of host larval development by the egg-larval endoparasitoid *chelonus insularis* (Hymenoptera: Braconidae). **Entomophaga**, v. 26, n. 3. P. 453-458, 1981.

ASHLEY, T. R. Classification and distribution of fall armyworm parasites. **Florida Entomologist**, v. 62, n. 45, p. 114-123, 1979.

ASHLEY, T. R. *et al.* Parasites attacking fall armyworm larvae, *Spodoptera frugiperda* in late planted field corn. **Florida Entomologist**, v. 63, n. 1, p. 136-143, 1980.

ASHLEY, T. R. *et al.* Parasitization of fall armyworm larvae on volunteer corn, bermudagrass and paragrass. **Florida Entomologist**, v. 66, n. 2, p. 267-271, 1983.

BRASIL. Instituto brasileiro de geografia e estatística. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção: 2002-2006**. Disponível em: <[www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br)>. Acesso em: abril 2010.

BRASIL. Ministério da agricultura, 2013. **Agronegócio exporta US\$ 93,58 bi até novembro**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/comunicacao/noticias/2013/12/agronegocio-exporta-uss-93-bi-ate-novembro>>. Acessado em 13 de Março de 2014.

BRASIL. Ministério da agricultura, 2013. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/milho>>. Acessado em 13 de Março de 2014

CARLSON, R .W. Suppression of the name *Campoletis perdincta* (Hymenoptera: Ichneumonidae) and the identity of species to which the name has been applied. **Entomological News**, v. 83, p.75-82, 1972.

CARVALHO, C. *et al.* **Anuário Brasileiro do Milho 2011**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2011. 128 p.

BURTON R. L.; PERKINS, W. D. WSB, a new laboratory diet for the corn earworm and the fall armyworm. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v.65, n.2, p.385-386, 1972.

CRUZ, I. A lagarta- do- cartucho na cultura do milho. **CNPMS- EMBRAPA**, Sete Lagoas, v. 21, 45 p. 1995.

CRUZ, I. Manual de identificação de pragas do milho e de seus principais agentes de controle biológico. **Embrapa informação tecnológica**, Brasília. 192 p, 2008.

CRUZ, I.; TURPIN, F. T. Efeito da *Spodoptera frugiperda* em diferentes estádios de crescimento da cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 17, n. 3, p. 355-359, 1982.

CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M. L. C.; MATOSO, M. J. Controle Biológico de *Spodoptera frugiperda* utilizando parasitóides de ovos *Trichogramma*. **CNPMS- EMBRAPA**, Sete Lagoas, v. 30, 40 p, 1999.

CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M.L.C.; GONÇALVES, E.P. LIMA, D.A.N.; DINIZ, E. Efeito da idade de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) no desempenho do parasitóide *Campoletis Flavicincta* (Ashmead) (Hymenoptera: Ichneumonidae) e consumo foliar por lagartas parasitadas e não parasitadas). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 26, n. 2, p. 229-234, 1997.

COMPANHIA NACIONAL DO ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, quarto levantamento, Janeiro 2013**. Disponível em: <[HTTP://conab.gov.br](http://conab.gov.br)> Acesso em 10 de fevereiro de 2013.

DÍEZ-RODRIGUÉZ, G. I.; OMOTO, C. Herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidea) a Lambda-Cialotrina. **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 2, p. 311-316, 2001.

DOWTON, M.; A. AUSTIN. Simultaneous analysis of 16S, 28S, COI and morphology in the Hymenoptera: Apocrita - Evolutionary transitions among parasitic wasps. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 74, p. 87-111, 2001.

EADY, R. D. A General Entomology. **Proceedings of the Royal entomological Society of London**. V. 43, n. 4-6, p. 66-72, 1968.

FERNADÉZ, F.; SHARKEY, M. J. **Introducción a los Hymenopteras de la Región Neotropical**. Sociedad Colombiana de Entomología, Universidad Nacional de Colombia, Agriculture Canadá, 2006. 894 p.

FIGUEIREDO, M. L. C.; PENTEADO-DIAS, A. M. P.; CRUZ, I. Relação entre a lagarta-do-cartucho e seus agentes de controle biológico natural na produção do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 12, p. 1693- 1698, 2006b.

GALLO, D. *et al.* **Manual de entomologia agrícola**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1988. 649 p.

GAULD, I. D. **The Ichneumonidae of Costa Rica, 2**. Memoirs of the American Entomological Institute, 1997. v. 57, 458p.

GAULD, I. D.; BOLTON, B. **The Hymenoptera**. New York: Oxford University Press, 1988. 332 p.

GAULD, I. D; SITHOLE, R; GOMES, J.U; GODOY, C. **The Ichneumonidae of Costa Rica, 4**. Memories of the American Entomological Institute, 2002. 768 p.

GAULD, I. D. **The Ichneumonidae of Costa Rica** , 1991. v. 47, 589p.

GEORGHIOU, G. P. Management of Resistance in Arthropods. In: GEORGHIOU, G. P.; SAITO, T. (Ed). **Pest resistance to pesticides**. New York, Plenum, 1983. P. 769-792.

GRISSEL, E. E. Hymenoptera biodiversity: some alien notions. **American Entomologist**, v. 45, p. 234-244, 1999.

GROSS, H. R.; YOUNG, O. P. *Archytas marmoratus* (Diptera: Tachinidae): screened-cage evaluations of selected densities of adults against larval populations of *Heliothis zea* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidea) on whorl and tassel stage corn. **Environmental Entomology**, v. 13, n. 1, p. 157-161, 1984.

GOULET, H; HUBER, J. T. **Hymenoptera of the world: an identification guide to families**. Ottawa, Ontario: Center for Land and Biological Resources Research, 1993. 668 p.

GUIA GEOGRÁFICO- MAPAS. Disponível em: <http://www.guiageo.com/brasil-mapa.htm>. Acessado em: 14 de Março de 2014.

HANSON, P. Y, GAULD, I. D. **Hymenoptera de la Región Neotropical**. Memories of the American Entomological Institute, 2006. v. 77, 994p.

HANSON, P. Y; GAULD, I. D. **Hymenoptera of Costa Rica**. Oxford : Oxford University Press, 1995. 893p.

HRUSKA, A. J.; GOULD, F. Fall warmyworm (Lepidoptera: Noctuidea) and *Diatraea lineolata* (Lepidoptera: Pyralidae): impact of larval population level and temporal occurrence in maize yield in Nicaragua. **Journal of Economic Entomology**, v. 90, n. 2, p. 611-622, 1997.

ISENHOOR, D. J. *Campoletis sonorensis* (Hym.: Ichneumonidae) as a parasitoid of *Spodoptera frugiperda* (Lep.: Noctuidea): host stage preference and functional response. **Entomophaga**, Paris, v. 30, n. 1, p. 31-36, 1985.

ISENHOOR, D. J. Development time, adult reproductive capability and longevity of *Campoletis sonorensis* (Hymenoptera: Ichneumonidae) as a parasitoid of *Spodoptera frugiperda* (Lepdoptera.: Noctuidea). **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 79, n.6, p. 893-897, 1986.

ISENHOOR, D. J.; WISEMAN, B. R. Parasitism of the fall armyworm (Lepdoptera.: Noctuidea) by *Campoletis sonorensis* (Hymenoptera: Ichneumonidae) as affected by host feeding on silks of *Zea maiz* L. cv. Zapalote Chico. **Environmental Entomology**, Lanhan v.18, n.3, p. 394-397, 1989.

LASALLE, J.; GAULD, I. **Hymenoptera and Biodiversity**. Wallingford: C.A.B. International, 1993. 348 p.

LEIDDERMAN, L.; SAUER, H. F. G. A lagarta dos milharais *Laphygma frugiperda* (Abbot & Smith, 1797). **O biológico**, v. 19. n. 1 p. 105-113, 1953.

LIMA, J. O. G.; ZANUNCIO, J. C. Controle da lagarta- do – cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda* pelo carbaril, carbofuran, dipel e endossulfan. **Revista Ceres**, v. 23, n. 127, p. 222-225, 1976.

LIS, J.T.; SCHLEIF, R. Size fractionation of double-stranded DNA by precipitation with polyethylene glycol. **Nucleic Acids Research**, vol. 2, p. 383-390, 1975.

LUCCHINI, F. 1977. **Biologia de *Spodoptera frugiperda* (Smith & Abbot, 1797)(Lepidoptera: Noctuidea), níveis de prejuízo e avaliação toxicológica de inseticidas para seu combate em milho.** 1977. 114 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Curitiba, 1977.

McCUTCHEON, G. S. Late- season parasitoids of the fall armyworm in South Carolina. **J. Agric. Entomol.**, Clemson, 8(3):219-221. 1991.

METCALF, C.; FLINT, W. P. J.; METCALF, R. L. **Destructive and useful insects: their habits and control.** 4. Ed. New York: Mc Graw – Hill, 1962. 1087 p.

MORENO, J. A. **Clima do Rio Grande do Sul.** Porto Alegre: Secretaria da Agricultura, Secção de Geografia, 1961. 42p.

MOREY, C. S. Biologia de *Campoletis grioti* (Blanchard)(Hymen.: Ichneumonidae) parasito de la lagarta cogollera de la maiz *spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Revista Peruana de Entomologia**, v. 14, n 4, p. 263-271, 1971.

NEVES, M. C. P. *et al.* **Agricultura Orgânica** – Expandindo o conhecimento. Disponível em: [HTTP://www.cnpab.embrapa.br/publicações/artigos/expandindo\\_conhecimento.html](http://www.cnpab.embrapa.br/publicações/artigos/expandindo_conhecimento.html)

ONODY, H. C. **Estudos dos Campopleginae (Hymenoptera, Ichneumonidae) neotropicais com ênfase na fauna da Mata Atlântica, Brasil.** 2005, 102 p. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de São Carlos, 2005.

PAIR, S. D.; GROSS, H. R. Seasonal incidence of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidea) pupal parasitism in corn by *Diapetimorpha introit* and *Cryptus albitarsis* (Hymenoptera: Ichneumonidae). **Journal of Entomological Science**, v. 24, n. 3, p. 339-343, 1989.

PLOEG, J. D. van der. **Camponeses e Impérios Alimentares: lutas por autonomia e sustentabilidade na era da globalização.** Porto Alegre: UFRGS, 2008. 372 p.

PORTER, C C. **Guía de los Géneros de Ichneumonidae em La región Neantártica Del sur de sudamérica.** Opera lilloana, 1998. v. 42, 234 p.

PORTER, C C. Zoogeografia de las Ichneumonidae Latino Americana (Hymenoptera). **Acta Zoologica Lilloana**, v. 36, p. 5-52, 1980.

RAJAPAKSE, R. H. S.; ASHLEY, T. R., WADILL, V. H. Interespecific competition between parasitoids of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Insects Science and its Applications**, v. 12, n. 4, p. 473-480, 1991.

RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. Ames: Iowa State University of Science and Technology/Cooperative Extension Service. **How a plant corn develops?** 1997, 21p. (Special Report N°.48). Disponível em : <http://www.extension.iastate.edu/hancock/info/Corn+Develop+Mgmt.htm>.

REZENDE, M. A. A.; CRUZ, I.; DELLA LUCIA, T. M. C. Aspectos biológicos do parasitóide *Chelonus insularis* (Cresson)(Hymenoptera: Braconidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 23, n. 3, p. 473-478, 1994.

SADRI, S. A.; TOFANELLI, M. B. D. Milho Crioulo: Uma Alternativa para a Rendabilidade do Campo. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 38, n. 1, p. 59-61, mar. 2008.

SALLES, L. A. B. **Bioecologia e controle da mosca- das- frutas Sul-Americana**. Pelotas: EMBRAPA/ CPACT, 1995. 58p.

SARMENTO, R. A. *et al.* Revisão da Biologia, Ocorrência e Controle de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae) em Milho no Brasil. **Bioscience Journal**, v. 18, n. 2, p. 41-48, Dez. 2002.

SHARKEY, M. J. Family Braconidae. In: GOULET, H; HUBER, JT. **Hymenoptera of the world: An identification guide to families**. Ottawa, Ontario: Center for Land and Biological Resources Research 1993. p. 362-395.

SHARKEY, M. J. & WAHL, D. B. Cladistics of the Ichneumonoidea (Hymenoptera). Ottawa, Canada: **American Entomological Institute. Journal of Hymenoptera Research**, v. 1, n.1, p. 15-24, 1992.

SILVA, R. B. **Ocorrência de parasitóides associados a pragas do milho (*zea mayz* L.) cultivado em diferentes sistemas de produção**. 2013, 202 f. Tese (Doutorado) Universidade Federal de São Carlos, 2013.

STURZA, V. S. **Densidade populacional, danos e parasitoides larvais de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepdoptera: Noctuidae) em genótipos de milho bt e não-bt**. 2012, 82 p. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Santa Maria, RS, 2012.



TAMURA, K. *et al.* MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. **Molecular Biology and Evolution**, v. 28, p. 2731–2739, 2011.

TOWNES, H.; TOWNES, M. **A catalogue and reclassification of Neotropic Ichneumonidae**. Memoirs of the American Entomological Institute, 1966. v. 8, 367p.

TOWNES, H. **The genera of Ichneumonidae, part 1**. Memoirs of the American Entomological Institute, 1969. v. 11, 300 p.

VIANA, P. A.; PRATES, H. T. Desenvolvimento e mortalidade larval de *Spodoptera frugiperda* em folhas de milho tratadas com extrato aquoso de folhas de *Azadirachta indica*. **Bragantia**, v. 62, n. 1, p. 69-74, 2003.

VIRLA, E.G. *et al.* El complejo de los parasitoides del “gusano cogollero” del maíz, *Spodoptera frugiperda*, em La República Argentina (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropica**, v. 45, p. 3-12, 1999.

WADDILL, H.; WHITCOMB, W. H. Release of *Telenomus remus* against *Spodoptera frugiperda* in Florida, USA. **Entomophaga**, v. 27, n. 2, p. 159-162, 1982.

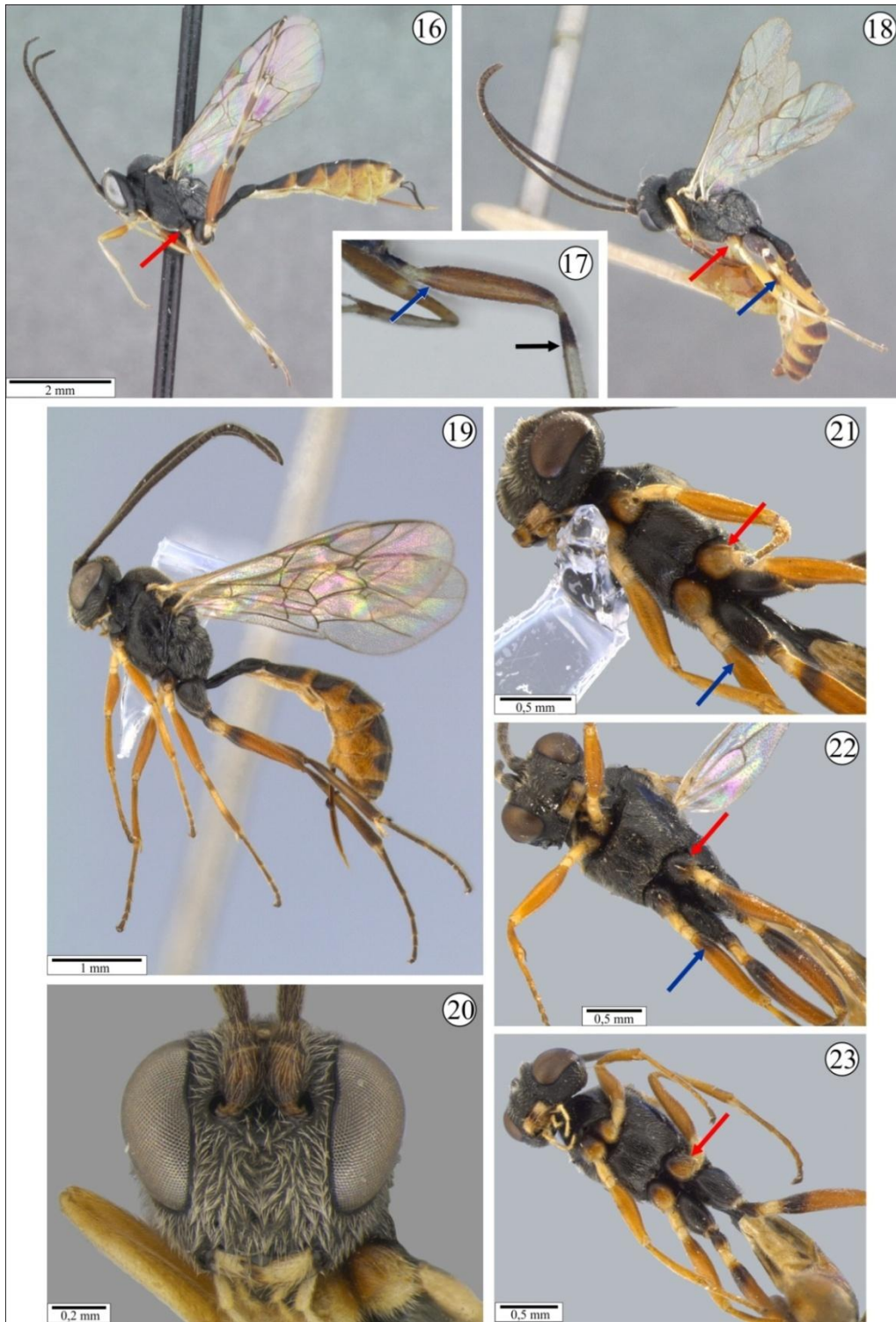
WAQUIL, J. M. *et al.* Controle da lagarta- do – cartucho em milho com inseticidas químicos e biológicos. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 17, n. 2, p. 163-166, 1982.

YU, D.; HORSTMANN, K. **Catalogue of world Ichneumonidae (Hymenoptera)**. Memoirs of the American Entomological Institute, 1997. v. 58, 1558 p.

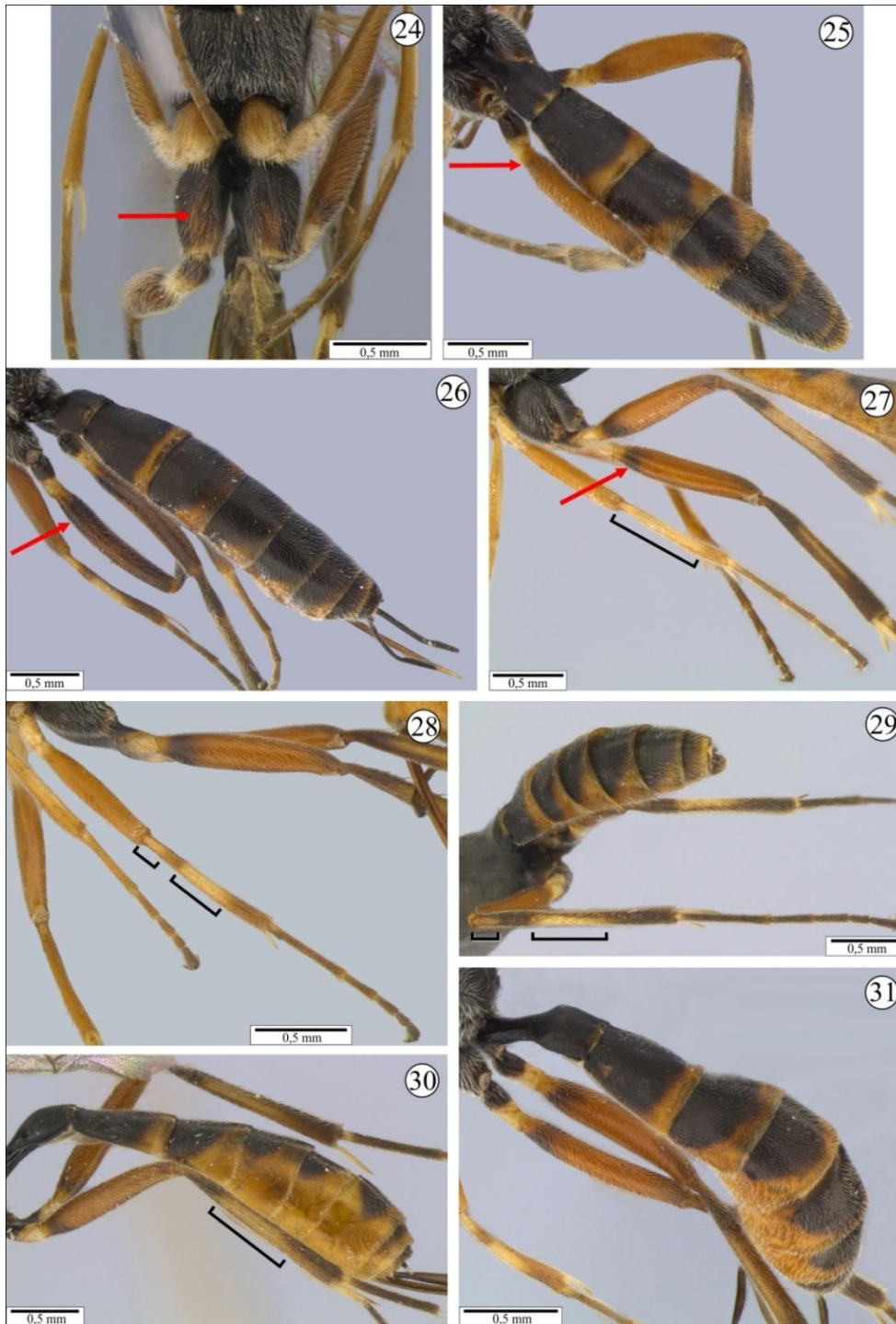
Yu, D. S. K.; ACHTERBERG, C. V.; HORSTMANN, K. 2012. **Taxapad 2012, Ichneumonoidea 2011**. Ottawa, Ontario, Canada. Database on flash-drive: <www.taxapad.com>.

YU, S. J.; NGUYEN, S. N.; ABO-ELGHAR, G. E. Biochemical characteristics of insecticida resistance in fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Pesticide Biochemistry and physiology**, v. 77, n. 1, p. 1-11, 2003

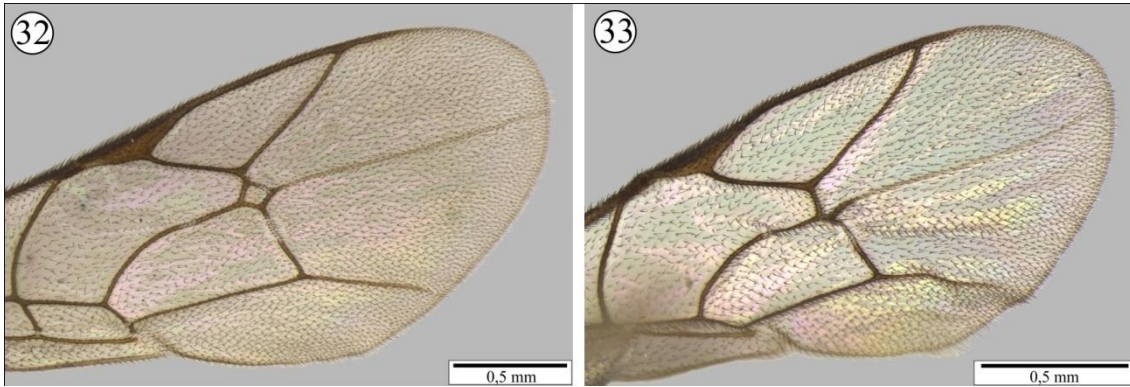
## **Anexos**



**Figuras 16-23:** 16, *Campoletis sonorensis* homótipo fêmea, seta vermelha indicando coloração da coxa média ; 17, holótipo de *C. sonorensis*, seta azul indicando ausência de mancha na base do fêmur posterior e seta preta coloração da tíbia posterior; 18, *Campoletis flavicineta* lectotipo macho, seta vermelha indicando coloração da coxa média e seta azul indicando presença de mancha na base do fêmur posterior; 19, *C. sonorensis* hábito vista lateral; 20, *C. sonorensis* cabeça, vista frontal; 21, 22, 23, *C. sonorensis* mesosoma vista ventral , flechas indicando a variação na coloração das pernas.

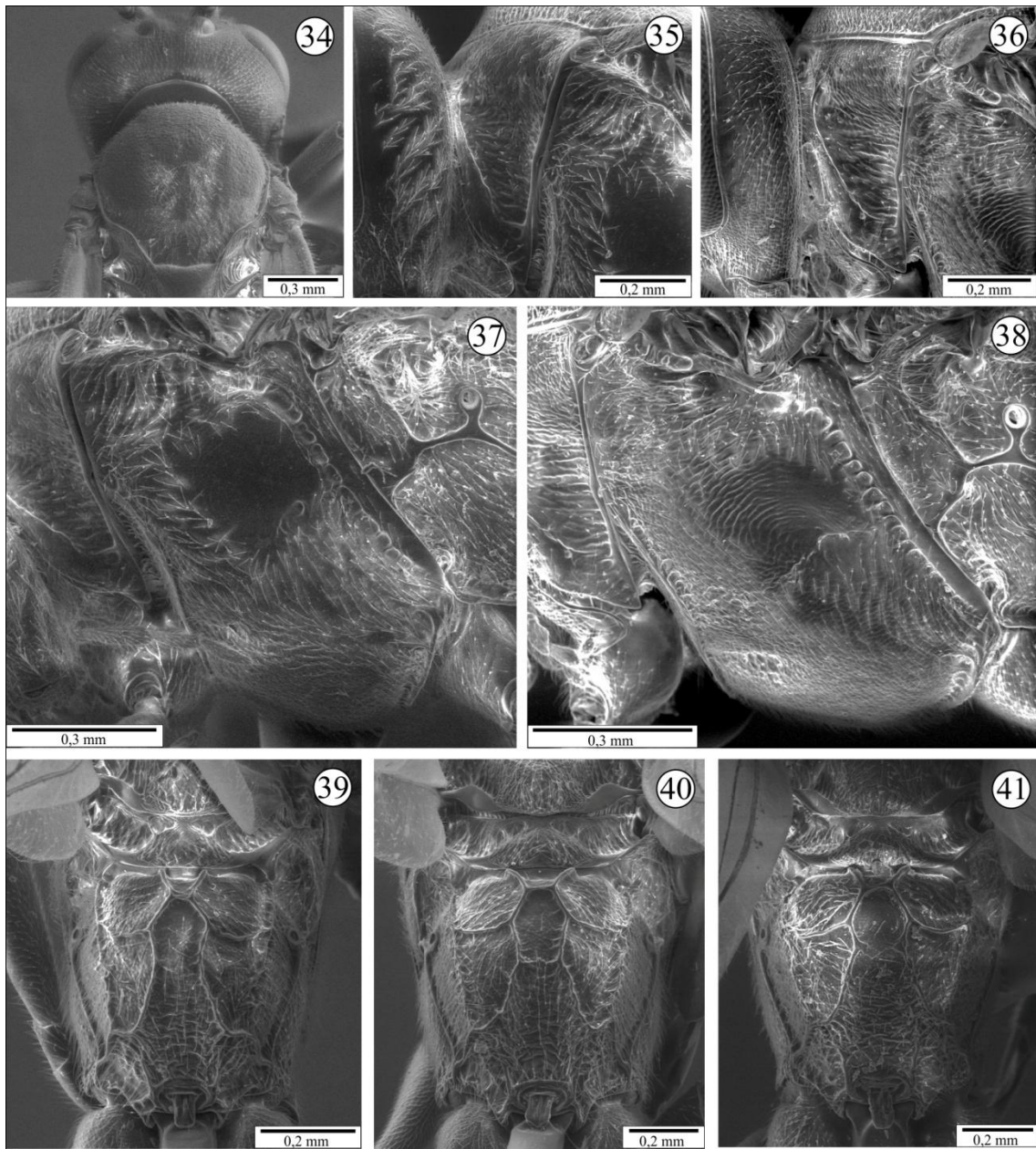


**Figuras 24-31:** *C. sonorensis*. 24,coxa posterior, vista ventral, seta vermelha indicando coloração da coxa posterior; 25, fêmur posterior, vista dorsal, seta vermelha indicando ausência de mancha; 26, fêmur posterior, seta vermelha indicando mancha em toda região dorsal ; 27, fêmur posterior, seta vermelha indicando a presença da mancha na base e tibia média em vista lateral, com variação na coloração realçada por traço preto; 28, tibia média em vista lateral com variação na coloração realçada por traço preto; 29, tibia posterior em vista dorsal com variação na coloração realçada por traço preto; 30, tibia posterior em vista lateral com variação na coloração realçada por traço preto; 31, metasoma vista dorsal.



**Figuras 32- 33:** *C. sonorensis*, asas anteriores, com atenção para areolete.





**Figuras 34-41:** *C. sonorensis*. 33, mesoscuto vista dorsal; 35 - 36, pronoto vista lateral; 37-38, mesopleura vista lateral; 39, 40, 41, propódeo vista dorsal.