

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN / ORIGINAL RESEARCH PAPER

# ¿MULTIPLICAR *Tetrastichus howardi* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EN LA ORUGA DE LA SEDA AFECTA SU BIOLOGÍA?

## Does Multiplying *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) in the Silkworm Affect its Biology?

Nahara Gabriela PIÑEYRO<sup>1</sup>, Fabrício FAGUNDES PEREIRA<sup>1</sup>, Felipe Luis GOMES BORGES<sup>1</sup>, Camila ROSSONI<sup>1</sup>, Antonio DE SOUZA SILVA<sup>1</sup>, Samir OLIVEIRA KASSAB<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Laboratorio de Control Biológico de Insectos, Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales, Universidad Federal da Grande Dourados. Rodovia Dourados-Itahum, Km 12, Cidade Universitaria. Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

**For correspondence.** [gapiuy@gmail.com](mailto:gapiuy@gmail.com)

**Received:** 21<sup>st</sup> December 2014, **Returned for revision:** 19<sup>th</sup> February 2015, **Accepted:** 19<sup>th</sup> May 2015.

**Associate Editor:** Geraldo Andrade-Carvalho.

**Citation / Citar este artículo como:** Piñeyro NG, Fagundes Pereira F, Gomes Borges FL, Rossoni C, Souza Silva A, Oliveira Kassab S. ¿Multiplicar *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) en la oruga de la seda afecta su biología?. Acta biol. Colomb. 2016;21(1):189-193. doi: <http://dx.doi.org/10.15446/abc.v21n1.47999>

### RESUMEN

La multiplicación sucesiva de parasitoides en hospederos alternativos, puede afectar las características biológicas y comprometer los sistemas de cría masiva de estos. El objetivo de este trabajo fue evaluar la multiplicación de *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) en pupas del hospedero alternativo *Bombyx mori* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Bombycidae), durante tres generaciones. Y si eso afecta su desempeño reproductivo, cuando se cría, posteriormente, en pupas del hospedero natural *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). Las informaciones obtenidas en este estudio pueden mejorar y facilitar el control biológico de plagas, principalmente, con la utilización de parasitoides, debido a que *T. howardi* parasita y se desarrolla en pupas de *B. mori*. De forma general, la multiplicación de *T. howardi* durante tres generaciones en pupas del hospedero alternativo *B. mori* no compromete las características biológicas de este parasitoide cuando se multiplica en su hospedero natural *D. saccharalis* a los efectos de su utilización en programas de control biológico.

**Palabras clave:** barrenador de la caña de azúcar, enemigo natural, manejo integrado de plagas.

### ABSTRACT

The successive multiplication of parasitoids in alternative hosts can affect the biological characteristics and compromise the systems for massive rearing. The aim of this study was to evaluate if the multiplication of *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) in pupae of the alternative host *Bombyx mori* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Bombycidae) for three generations, affects its reproductive performance, when are reared, then in pupae of the natural host *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). The information obtained in this study can improve and facilitate the biological control of pests, mainly with the use of parasitoids, due to the fact that *T. howardi* parasite and develops into pupae of *B. mori*. In general, the multiplication of *T. howardi* for three generations in the alternative host pupae of *B. mori* does not compromise the biological characteristics of this parasitoid when multiplied in its natural host *D. saccharalis* to the effects of their use in biological control programs.

**Keywords:** Sugarcane borer, integrate pest management, natural enemy.

El parasitoide *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) ha sido estudiado como agente de control biológico de lepidópteros plagas, principalmente de insectos de las familias Plutellidae, Noctuidae y Crambidae (Prasad *et al.*, 2007; Cruz *et al.*, 2011; Costa *et al.*, 2014). Además, la capacidad de este insecto en parasitar larvas del barrenador de la caña de azúcar *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) ya ha sido registrada (Vargas *et al.*, 2011).

Sin embargo, el uso de parasitoides para el control de plagas agrícolas depende de la elección del hospedero apropiado para las multiplicaciones masivas (Pereira *et al.*, 2010a; Pereira *et al.*, 2010b). La multiplicación de parasitoides, a gran escala, es fundamental para la implantación de programas de control biológico (Vargas *et al.*, 2013). La falta de dietas artificiales, hace necesario el uso de un gran número de hospederos alternativos para la producción de estos insectos (Milward-de-Azevedo *et al.*, 2004).

Los enemigos naturales deben multiplicarse en hospederos alternativos de bajo costo de producción y que no reduzcan la eficiencia de control de los mismos sobre el hospedero natural (Pereira *et al.*, 2010a; Pereira *et al.*, 2010b) y esto está directamente relacionado con la disponibilidad de hospederos naturales o alternativos para la multiplicación de estos agentes de control biológico (Zanuncio *et al.*, 2008). *Tetrastichus howardi* ha sido multiplicado en pupas del hospedero natural *D. saccharalis* y en el hospedero alternativo *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae).

La multiplicación de *T. howardi* en pupas del hospedero alternativo *Bombyx mori* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Bombycidae) presenta varias ventajas, como el bajo costo de las pupas del gusano de la seda: la fácil obtención de las mismas con los sericicultores, mayor número de individuos emergidos de pupas de *B. mori* (por ser éstas de mayor tamaño que el hospedero natural) y la disponibilidad de un hospedero alternativo.

El presente estudio informa por primera vez en la literatura, la posibilidad de multiplicación de *T. howardi* en pupas de *B. mori*. Es conocido que la calidad biológica de parasitoides producidos en hospederos alternativos puede variar con el número de generaciones en laboratorio (Pereira *et al.*, 2010a; Pereira *et al.*, 2010b), lo que nos ha motivado a desarrollar este trabajo.

Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar durante tres generaciones si la multiplicación de *T. howardi* en pupas del hospedero alternativo *B. mori*, afecta su desempeño reproductivo, cuando es multiplicado, posteriormente, en pupas del hospedero natural *D. saccharalis*.

Los experimentos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Control Biológico de Insectos de la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales de la Universidad Federal da Grande Dourados (UFGD) en la ciudad de Dourados, estado de Mato Grosso do Sul, Brasil.

Para la multiplicación del hospedero neutro *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), las larvas se mantuvieron en bandejas de plástico de 29 x 23 x 11 cm y se alimentaron con salvado de trigo (97 %), levadura de cerveza (3 %) y rebanadas de chayote (Zamperline y Zanuncio, 1992), col, caña de azúcar o pepino, para suplementar la alimentación.

Los huevos del barrenador de la caña de azúcar se obtuvieron de la cría del LECOBIO. Después de la eclosión, las larvas de *D. saccharalis* se colocaron en potes con dieta artificial, donde permanecieron hasta la formación de pupas. Las pupas se recogieron, se seleccionaron para montar el experimento y las restantes fueron colocados en jaulas de PVC (10 x 22 cm), 50 adultos (20 machos y 30 hembras) recubiertas con hojas de papel humedecido, que sirve como sustrato para la oviposición. Las jaulas se sellaron con gasa y elástico (Parra, 2007).

Las pupas de *B. mori* fueron proporcionados por el sericultor Msc. Bruno Pontin. Los adultos de *T. howardi* oriundos del LECOBIO se mantuvieron en tubos de vidrio (2,5 x 8,5 cm) cerrados con algodón y alimentados con gotas de miel pura. Para mantenimiento de la cría, pupas de *T. molitor* de 24 horas se expusieron al parasitismo por siete hembras de *T. howardi* durante 24 horas. Después de este período, las pupas parasitadas fueron individualizadas y se mantuvieron a  $25 \pm 1$  °C, humedad relativa de  $70 \pm 10$  % y fotoperiodo de 14 horas hasta la emergencia de adultos (Vargas *et al.*, 2011).

*Tetrastichus howardi* fue multiplicado por tres generaciones en pupas de 24 h de edad de *T. molitor* (hospedero neutro para eliminar un posible acondicionamiento al hospedero de multiplicación). Dos grupos de catorce hembras de *T. howardi* se multiplicaron por separado, durante tres generaciones, uno en pupas de 72 h de edad del hospedero alternativo *B. mori* y otro en pupas de 24 h de edad del hospedero natural *D. saccharalis*. Luego, cincuenta pupas de *D. saccharalis* de 24 h de edad se individualizaron y se expusieron durante 24 horas al parasitismo de una hembra de *T. howardi*, multiplicado previamente en pupas de *B. mori* o de *D. saccharalis* ( $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 10$  % de humedad relativa y fotoperiodo de 14 horas).

Se evaluó el porcentaje de parasitismo, es decir, la estimación del número de pupas parasitadas por tratamiento, descontándose la mortalidad natural del hospedero, en otras palabras, aquellas pupas que por ventura en el control no hayan llegado a adultos. También se evaluó el porcentaje de emergencia de la progenie, el número de parasitoides emergidos por pupa de *D. saccharalis* (progenie), duración del ciclo de vida (huevo-adulto) y proporción sexual (RS = número de hembras / número de adultos) de *T. howardi*. El sexo de los parasitoides se determinó de acuerdo a las características morfológicas de las antenas (Costa *et al.*, 2014).

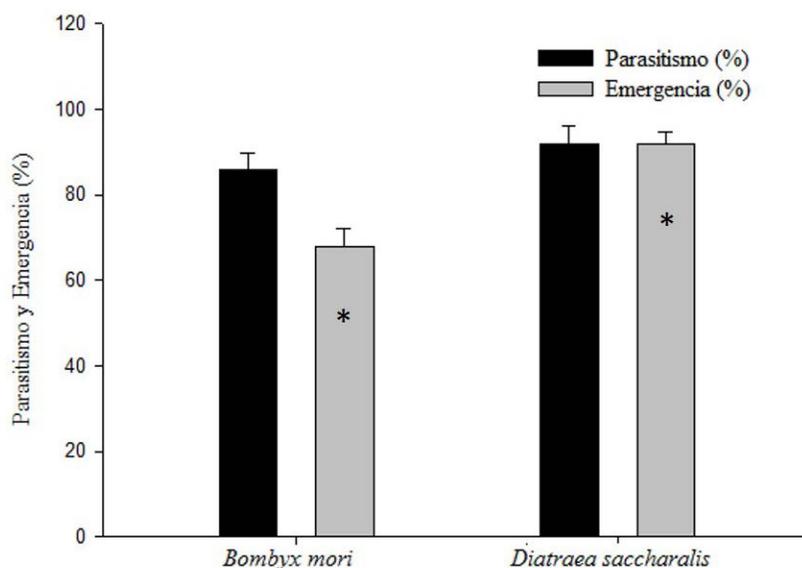
Para la evaluación de la longevidad media en días se seleccionaron al azar 20 hembras y 20 machos de *T.*

*howardi* de cada tratamiento, en el día de su emergencia, individualizados en tubos de ensayo conteniendo una gota de miel para alimentación, donde permanecieron hasta su muerte. El diseño experimental fue completamente al azar con dos tratamientos representados por *T. howardi* después de haber sido multiplicado en cada hospedero (*B. mori* o *D. saccharalis*), con diez repeticiones, cada una representada por cinco pupas individualizadas con una hembra parasitoide, totalizando cincuenta pupas por tratamiento. Los promedios de las características biológicas mencionados se compararon por análisis de varianza (ANOVA) a 5 % de probabilidad, pues el test F es concluyente para dos tratamientos.

Como resultados de nuestra investigación obtuvimos que la multiplicación sucesiva de *T. howardi* en el hospedero *B. mori* y posteriormente multiplicado en el hospedero natural *D. saccharalis*, no afectó el parasitismo:  $86,00 \pm 3,61$

% en pupas de *D. saccharalis* después multiplicado por tres generaciones en pupas de *B. mori* y  $92,00 \pm 4,12$  % en pupas de *D. saccharalis* ( $F = 0,60$ ;  $p = 0,46$ ). Sin embargo, hubo diferencia en la emergencia:  $68,00 \pm 4,12$  % en pupas de *D. saccharalis* después multiplicado por tres generaciones en pupas de *B. mori* y  $92,00 \pm 2,65$  % en pupas de *D. saccharalis* ( $F = 12,00$ ;  $p = 0,01$ ) (Fig. 1). Por otra parte, se informa por primera vez en la literatura, la posibilidad de multiplicación de *T. howardi* en pupas de *B. mori*.

El número de inmaduros ( $F = 1,53$ ,  $p = 0,25$ ), la progenie ( $F = 1,04$ ;  $p = 0,34$ ), la duración del ciclo de vida ( $F = 1,97$ ;  $p = 0,20$ ) y la longevidad de las hembras ( $F = 3,81$ ;  $p = 0,09$ ) de *T. howardi* en pupas de *D. saccharalis* después multiplicado por tres generaciones en pupas de *B. mori* fueron semejantes (Tabla 1). La proporción sexual ( $F = 14,25$ ,  $p = 0,01$ ) y longevidad de machos ( $F = 7,20$ ,  $p = 0,03$ ) difirieron (Tabla 1).



**Figura 1.** Parasitismo (%) y emergencia (%) de *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) en pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) después de multiplicarlo por tres generaciones en pupas de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) y *D. saccharalis* a  $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 10$  % (HR) y 14 h de fotoperiodo. n (número de pupas) = 50/ tratamiento. \*Indica diferencia significativa a 5 %.

**Tabla 1.** Características biológicas (Promedios ± Desviación estándar)<sup>1</sup> de *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) en pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) después de multiplicarlo por tres generaciones en pupas de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) y *D. saccharalis* a temperatura de  $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 10$  % (HR) y 14 h de fotoperiodo.

Características Biológicas	<i>B. mori</i>	<i>D. saccharalis</i>	F	P
Proporción sexual (0-1)	0,53 ± 0,05B	0,89 ± 0,05A	14,25	0,01
Inmaduros (número)	0,12 ± 0,07A	0,00 ± 0,00A	1,53	0,25
Progenie (individuos)	93,10 ± 7,12A	82,11 ± 2,69A	1,04	0,34
Duración del ciclo de vida (días)	17,70 ± 0,30A	17,00 ± 0,18A	1,97	0,20
Longevidad de hembras (días)	19,50 ± 1,43A	16,30 ± 1,15A	3,81	0,09
Longevidad de machos (días)	20,70 ± 1,23A	15,90 ± 1,58B	7,20	0,03

<sup>1</sup>Promedios seguidos por letras iguales, mayúsculas en las filas, no difieren entre sí por el test F, a 5 % de probabilidad.

El elevado índice de parasitismo de *T. howardi* en pupas de *D. saccharalis* después de multiplicarlo por tres generaciones en pupas de *B. mori* y *D. saccharalis* demuestra la capacidad del parasitoide para adaptarse a diferentes especies de hospederos. Esto es importante, pues puede reducir los costos de producción de este enemigo natural, viabilizando su uso en programas de control biológico. Además, dado que el parasitismo es la característica principal para condiciones de campo y cómo este parámetro no se vio afectado, creemos que la producción de *T. howardi* en *B. mori* no influye en la eficacia del control de insectos plaga.

Por otro lado, el porcentaje de emergencia de *T. howardi* en pupas de *D. saccharalis* fue mayor que en pupas de *D. saccharalis* después de multiplicado por tres generaciones en pupas de *B. mori*. Esto se puede atribuir a multiplicaciones consecutivas de este parasitoide en los hospederos (Pereira *et al.*, 2009). Sin embargo, es de destacar que la calidad y el número de parasitoides producidos en pupas del gusano de la seda son superiores que los obtenidos de *D. saccharalis*. Esto ha sido comprobado para los eulofideos *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) y *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) que ya han sido producidos en pupas de *B. mori* sin comprometer sus características biológicas, lo que demuestra la viabilidad y posibilidad de multiplicación de *T. howardi* en pupas del gusano de la seda (Pereira *et al.*, 2010b; Calado *et al.*, 2014).

La proporción sexual de *T. howardi* después de multiplicarlo por tres generaciones en pupas de *B. mori* y *D. saccharalis* presentó diferencias significativas. Sin embargo, en ambos tratamientos, la proporción sexual alcanza el índice exigido (igual o superior a 0,5) para el control de calidad de parasitoides, en multiplicaciones masivas (Da Silva *et al.*, 2008).

El número de inmaduros y el ciclo de vida (huevo-adulto) fueron semejantes en ambos tratamientos, esto sugiere que el hospedero alternativo es de calidad y no interferirá con el período de desarrollo de *T. howardi*, pues la duración del ciclo de vida un parasitoide depende de varios factores, entre ellos la especie hospedera (Zago *et al.*, 2006).

La longevidad de las hembras fue semejante en ambos tratamientos, sin embargo, la longevidad de los machos fue menor en los parasitoides multiplicados por tres generaciones en pupas de *B. mori* que en los multiplicados en *D. saccharalis*, no obstante, este parámetro no influye en la multiplicación masiva, pues, la función de los parasitoides machos es la de aparearse con las hembras en las primeras horas después de la emergencia y son las hembras parasitoides las responsables por el parasitismo y la progenie de producción (Uçkan y Gulel, 2002; Amalin *et al.*, 2005), lo que disminuye la infestaciones de poblaciones de plagas en condiciones de campo.

Si bien ha habido diferencias en la emergencia de adultos y en la proporción sexual de *T. howardi*, multiplicado durante

tres generaciones en *B. mori*, y posteriormente multiplicado en el hospedero natural *D. saccharalis*, son varios factores que justifican la multiplicación de este enemigo natural en pupas de *B. mori* como el bajo costo de las pupas del gusano de la seda; la fácil obtención de las mismas con los sericultores; mayor número de individuos emergidos de pupas de *B. mori* por ser éstas de mayor tamaño que el hospedero natural y la disponibilidad de un hospedero alternativo.

## CONCLUSIONES

Las informaciones obtenidas en este estudio pueden mejorar y facilitar el control biológico de plagas, principalmente, con la utilización de parasitoides, debido al hecho de que *T. howardi* parasita y se desarrolla en pupas de *B. mori*.

De manera general, la multiplicación de *T. howardi* durante tres generaciones en pupas del hospedero alternativo *B. mori* no compromete las características biológicas de este parasitoide cuando se multiplica en su hospedero natural *D. saccharalis* a los efectos de su utilización en programas de control biológico.

## AGRADECIMIENTOS

Al Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), por la concesión de la beca de iniciación científica y al sericultor Msc. Bruno Pontin por ofrecer las pupas de *Bombyx mori*.

## REFERENCIAS

- Amalin DM, Pena JE, Duncan RE. Effects of host age, female parasitoid age, and host plant on parasitism of *Ceratogramma etiennei* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Fla Entomol. 2005;88(1):77-82. Doi:10.1653/0015-4040(2005)088[0077:EOHAFP]2.0.CO;2
- Calado VRF, Pereira FF, Vargas EL, Glaeser DF, Oliveira FG. Características biológicas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) nos hospedeiros *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) e *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). Biotemas. 2014;27(1):71-77.
- Costa DP, Pereira FF, Kassab SO, Rossoni C, Favero K, Barbosa RH. Reproduction of *Tetrastichus howardi* on *Diatraea saccharalis* pupae of different ages. Amaz J Agric Environ Sci. 2014;57(1):67-71. Doi:10.4322/rca.2013.067
- Cruz I, Redoan AC, Silva RB, Figueiredo MLC, Pentead-Dias AM. New record of *Tetrastichus howardi* (Olliff) as a parasitoid of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) on maize. Sci Agric. 2011;68(2):252-254. Doi:10.1590/S0103-90162011000200017
- Da Silva Dias N, Parra JRP, Da Costa Lima TC. Seleção de hospedeiro alternativo para três espécies de tricogramatídeos neotropicais. Pesq Agropec Bras. 2008;43(11):1467-1473. Doi:10.1590/S0100-204X2008001100004

- Milward-De-Azevedo EMV, Serafin I, Piranda EM, Gulias-Gomes CC. Desempenho reprodutivo de *Nasonia vitripennis* Walker (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas criopreservadas de *Chrysomia megacephala* Fabricius (Diptera: Calliphoridae): avaliação preliminar. Ciênc Rural. 2004;34(1):207-211. Doi:10.1590/S0103-84782004000100032
- Parra JRP. Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico. ESALQ/FEALQ. 2007;6(1):134.
- Pereira FF, Zanuncio JC, Pastori PL, Pedrosa AR, Oliveira HN. Parasitismo de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) em hospedeiro alternativo sobre plantas de eucalipto em semi-campo. Rev Ciênc Agron. 2010a;41(4):715-720. Doi:10.1590/S1806-66902010000400028
- Pereira FF, Zanuncio JC, Serrão JE, Zanuncio TV, Pratisoli D, Pastori PL. The density of females of the *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). An Acad Bras Cienc. 2010b;82(2):1-9. Doi:10.1590/S0001-37652010000200008
- Pereira FF, Zanuncio JC, Serrão JE, Oliveira HN, Fávero K, Grance ELV. Progenie de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) parasitando pupas de *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) de diferentes idades. Neotrop Entomol. 2009;38(5):660-664. Doi:10.1590/S1519-566X2009000500016
- Prasad KS, Aruna AS, Kumar V, Kariappa BK. Feasibility of mass production of *Tetrastichus howardi* (Olliff), a parasitoid of leaf roller (*Diaphania pulverulentalis*), on *Musca domestica* (L.). Indian J Seric. 2007;46(1):89-9.
- Uçkan F, Gulel A. Age-related fecundity and sex ratio variation in *Apanteles galleriae* (Braconidae) and host effect on fecundity and sex ratio of its hyperparasitoid *Dibrachys boarmiae* (Hym., Pteromalidae). J Appl Entomol. 2002;126(10):534-537. Doi:10.1046/j.1439-0418.2002.00706.x
- Vargas EL, Pereira FF, Glaeser DF, Calado VRF, Oliveira FG, Pastori PL. Searching and parasitism of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) by *Trichospilus Diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae). Acta biol Colomb. 2013;18(2):259-264.
- Vargas EL, Pereira FF, Tavares MT, Pastori PL. Record of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Diatraea* sp. (Lepidoptera: Crambidae) in sugarcane crop in Brazil. Entomotropica. 2011;26(3):143-146.
- Zago HB, Pratisoli D, Barros R, Gondim Jr MG. Biologia e exigências térmicas de *Trichogramma pratissolii* Querino & Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em hospedeiros alternativos. Neotrop Entomol. 2006;35(3):377-381.
- Zamperline B, Zanuncio JC. Influência da alimentação de *Tenebrio molitor* L. 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae) no desenvolvimento ninfal de *Podisus connexivus* Bergroth, 1891 (Hemiptera: Pentatomidae). Rev Árvore. 1992;16(2):224-230.
- Zanuncio JC, Pereira FF, Jaques GC, Tavares MT, Serrão JE. *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae), a new alternative host to rear the pupae parasitoid *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae). Coleopt Bull. 2008;62(1):64-66. Doi:10.1649/1015.1

