

PATRIK LUIZ PASTORI

DESENVOLVIMENTO E QUALIDADE DE *Trichospilus diatraeae* (HYMENOPTERA:
EULOPHIDAE) UTILIZANDO HOSPEDEIROS ALTERNATIVOS

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2010

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

P293d
2010

Pastori, Patrik Luiz, 1979-

Desenvolvimento e qualidade de *Trichospilus diatraeae*
(Hymenoptera: Eulophidae) utilizando hospedeiros
alternativos / Patrik Luiz Pastori. – Viçosa, MG, 2010.
xi, 73f. : il. ; 29cm.

Orientador: José Cola Zanuncio.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. *Trichospilus diatraeae* – Criação.
2. *Trichospilus diatraeae* – Desenvolvimento. 3. Relação
hospedeiro – parasito. 4. Parasito. 5. Parasitismo.
- I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 595.79

PATRIK LUIZ PASTORI

DESENVOLVIMENTO E QUALIDADE DE *Trichospilus diatraeae* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE)
UTILIZANDO HOSPEDEIROS ALTERNATIVOS

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

APROVADA: 23 de novembro de 2010.



Prof. Dirceu Pratisoli
Coorientador



Prof. Hugo Bolsoni Zago



Dr. Rosenilson Pinto



Prof. Valterley Soares Rocha



Prof. José Cola Zanuncio
Orientador

*“...Venha!
Meu coração está com pressa
Quando a esperança está dispersa
Só a verdade me liberta
Chega de maldade e ilusão...”*

(Renato Russo)

*Aos meus queridos pais Luiz Bortolo Pastori e Orandi dos Santos Pastori e a minha irmã
Patricia Pastori pelo amor incondicional, incentivos contínuos, conselhos e
ensinamentos.*

Ofereço

*À memória de meu avô Sebastião Pastore e
Antônio dos Santos e avó Maria Bárbara Salles dos Santos.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

Ao Grande Arquiteto do Universo pela saúde e disposição para superar os obstáculos;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos;

A Universidade Federal de Viçosa (UFV), pela oportunidade de realizar o Doutorado em Fitotecnia;

Ao professor José Cola Zanuncio e demais membros da comissão orientadora pela oportunidade e orientação;

Ao professor Dirceu Pratissoli a quem admiro pelo profissionalismo, seriedade, entusiasmo, ética e competência na realização de seus trabalhos. Agradeço por ter despertado meu interesse pela Entomologia, à co-orientação, o estímulo constante, as oportunidades oferecidas e acima de tudo, a amizade;

Ao pesquisador Marcos Botton a quem admiro pelo profissionalismo, competência, entusiasmo, seriedade e ética. Agradeço os valiosos conselhos que me servirão para toda minha vida profissional e pessoal e também pelas oportunidades oferecidas, projetos, publicações e acima de tudo, a amizade;

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da UFV e em especial aos professores Paulo Roberto Cecon, João Carlos Cardoso Galvão, Valterley Soares Rocha, Marcelo C. Picanço e Marília C. Ventrella pelos ensinamentos, amizade e companheirismo transmitidos durante a realização do curso;

A Mara Rodrigues e Tatiane Gouvea, secretárias do Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia da UFV, pela amizade, disposição e providencial ajuda nas questões burocráticas;

A todos meus professores desde os primeiros anos escolares até os mais recentes, pela amizade e ensinamentos transmitidos, cada um teve papel importante na minha caminhada;

A minha amada, Elaine Facco Celin, por todo amor e paciência em todos os momentos;

A Fabricio Fagundes Pereira e Harley Nonato de Oliveira, profissionais que admiro pelo empenho, entusiasmo, dedicação, competência e ética. Agradeço todas as oportunidades e esforços dispensados e também às conversas descontraídas nas confrarias;

A todos os colegas do Curso de Pós-Graduação, pela amizade, convívio e companheirismo na realização dos trabalhos no decorrer do curso;

Aos bolsistas/estudantes de Iniciação Científica e pós-graduandos do Laboratório de Controle Biológico pelo apoio na realização dos experimentos, pela amizade e companheirismo;

Aos amigos(as) do Laboratório de Entomologia da UFGD pelo apoio na realização dos experimentos, pela amizade e companheirismo;

A Usina Dourados S/A - Açúcar e Alcool (Dourados- MS) por ceder área experimental;

A todos os amigos e amigas que não citarei nomes para não ser injusto, vocês serão sempre recordados pelo sinal da verdadeira amizade;

Aos irmãos da república (Marcelo, Gilberto e Wagner) e aos agregados pelos almoços, festas e também momentos de conversa séria e incentivos;

A Frederico Antônio Xavier pela amizade e por tornar a vida da minha irmã mais feliz;

Aos membros das bancas de qualificação e defesa que prestaram seu apoio e valiosas sugestões na melhoria desse trabalho;

Enfim, a todos, que direta ou indiretamente, colaboraram para o êxito deste trabalho, o meu eterno agradecimento e estima.

BIOGRAFIA

PATRIK LUIZ PASTORI, filho de Orandi dos Santos Pastori e Luiz Bortolo Pastori, nasceu na cidade de Castelo, Espírito Santo, Brasil, no dia 18 de junho de 1979.

Em setembro de 1999 ingressou na Universidade Federal do Espírito Santo (Alegre, ES), graduando-se em Engenharia Agrônômica em maio de 2004.

Em março de 2005, iniciou o Mestrado em Ciências Biológicas (Entomologia), na Universidade Federal do Paraná (Curitiba, PR), desenvolvendo também experimentos na Embrapa Uva e Vinho (Bento Gonçalves, RS), vindo a defender dissertação em março de 2007.

Em março de 2007, iniciou o Doutorado em Fitotecnia, na Universidade Federal de Viçosa (Viçosa, MG), desenvolvendo também experimentos na Universidade Federal da Grande Dourados (Dourados, MS), vindo a defender tese em novembro de 2010.

SUMÁRIO

	Página
Resumo	viii
Abstract	x
Introdução Geral	01
Referências	04

CAPÍTULO I

Desenvolvimento e Exigências Térmicas de <i>Trichospilus diatraeae</i> Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) Criado em Pupas de <i>Anticarsia gemmatalis</i> (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae).....	08
Resumo.....	09
Abstract.....	09
Introdução.....	10
Material e Métodos.....	11
Resultados.....	12
Discussão.....	12
Conclusões.....	15
Agradecimentos.....	15
Referências.....	16

CAPÍTULO II

Reprodução de <i>Trichospilus diatraeae</i> Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) em Pupas de <i>Anticarsia gemmatalis</i> (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) em Relação à Idade do Parasitóide e Hospedeiro.....	23
Resumo.....	24
Abstract.....	24
Introdução.....	25
Material e Métodos.....	25
Resultados.....	27
Discussão.....	28
Conclusões.....	30
Agradecimentos.....	30
Referências.....	31

CAPÍTULO III

Temperatura e Tempo de Refrigeração de Pupas de <i>Anticarsia gemmatalis</i> (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) Reduzem a Reprodução de <i>Trichospilus diatraeae</i> Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae)?.....	38
Resumo.....	39
Abstract.....	39
Introdução.....	40
Material e Métodos.....	41
Resultados.....	43
Discussão.....	44
Conclusões.....	47
Agradecimentos.....	48
Referências.....	49

CAPÍTULO IV

Dispersão de <i>Trichospilus diatraeae</i> Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) em Função da Distância de Pupas de <i>Diatraea saccharalis</i> (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) em Cana-de-açúcar.....	59
Resumo.....	60
Abstract.....	60
Conclusão.....	64
Agradecimentos.....	64
Referências.....	66
 Conclusões Finais	 70
Considerações Finais	72

RESUMO

PASTORI, Patrik Luiz, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, novembro de 2010.
Desenvolvimento e qualidade de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) utilizando hospedeiros alternativos. Orientador: José Cola Zanuncio. Coorientadores: Dirceu Pratissoli, Paulo Roberto Cecon, José Eduardo Serrão e Teresinha Vinha Zanuncio.

Parasitóides são importantes pela diversidade e por regularem populações de insetos de diferentes ordens, porém sua aplicação no campo depende de estudos para aprimorar sua criação massal. O objetivo desse trabalho foi estudar fatores reprodutivos de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) visando a criação massal e dispersão desse parasitóide em cana-de-açúcar. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LCBI) do Instituto de Biotecnologia Aplicada a Agricultura (BIOAGRO) da Universidade Federal de Viçosa (UFV) em Viçosa, Minas Gerais, no Laboratório de Entomologia (LE) da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) e em plantio comercial de cana-de-açúcar da Empresa Dourados S/A - Açúcar e Alcool em Dourados, Mato Grosso do Sul. Duas espécies de Lepidoptera: *A. gemmatalis* e *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) foram criadas em dieta artificial e o inimigo natural, *T. diatraeae*, sobre esses lepidópteros. Foram realizados experimentos visando avaliar o desenvolvimento de *T. diatraeae* em pupas de *A. gemmatalis* mantidas em sete temperaturas (18, 20, 22, 25, 28, 30 e 32°C); o número de indivíduos provenientes de fêmeas de *T. diatraeae* com 24, 48, 72 ou 96 horas de idade em pupas de *A. gemmatalis* com essas mesmas idades; o número de indivíduos de *T. diatraeae* em pupas de *A. gemmatalis* após serem armazenadas a zero ou 5°C por um, três, seis, nove ou 12 dias e a dispersão de *T. diatraeae* em plantios comerciais de cana-de-açúcar. Os experimentos, no laboratório, foram mantidos à 25 ± 2°C, 70 ± 10% de umidade relativa e 14 horas de fotofase e o parasitismo, a emergência, o número de descendentes, a longevidade, a razão sexual, a largura da cápsula cefálica, a duração do ciclo de vida dos descendentes (machos e fêmeas) e a dispersão de *T. diatraeae*, em cana-de-açúcar, foram os principais parâmetros quantificados. A duração do ciclo biológico (ovo-adulto) de *T. diatraeae* reduziu com o aumento da temperatura de 37,72 a 16,00 dias a 18 e 30°C, respectivamente. A emergência e o número de descendentes de *T. diatraeae* foram maiores na faixa térmica 22 à 25°C. A temperatura base (Tb) e a constante térmica (K) foram de 8,40°C e 328,41 graus-dia (GD), respectivamente. A emergência, o número de descendentes, a duração do ciclo de vida, a razão sexual, a longevidade e largura da cápsula cefálica de machos e de fêmeas de *T. diatraeae* apresentaram resposta semelhante quando se avaliou o efeito idade das pupas do hospedeiro e fêmeas do parasitóide. Assim,

pupas de *A. gemmatalis* com até 96 horas de idade podem ser usadas para criação massal de *T. diatraeae* utilizando-se fêmeas com até 96 horas de idade. O armazenamento a frio (zero ou 5°C) de pupas de *A. gemmatalis* não parasitadas e contendo o estágio imaturo (pupa) de *T. diatraeae* no seu interior, afeta negativamente a reprodução desse parasitóide. Houve redução do parasitismo com o aumento da distância de liberação, mas fêmeas de *T. diatraeae* encontraram e parasitaram pupas de *D. saccharalis* até a 12 metros do ponto de liberação sendo esse valor uma aproximação preliminar da dispersão de *T. diatraeae* em cana-de-açúcar com sete meses de idade da soca devido à complexidade de fatores envolvidos nos experimentos de campo.

ABSTRACT

PASTORI, Patrik Luiz, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, november 2010. **Development and quality of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) using alternative hosts.** Adviser: José Cola Zanuncio. Co-advisers: Dirceu Pratissoli, Paulo Roberto Cecon, José Eduardo Serrão and Teresinha Vinha Zanuncio.

Parasitoids are important because of their diversity and they regulate populations of insects of different orders, however to use them in the field depends on studies to improve their mass rearing. The objective of this work was to study reproductive factors of *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) on pupae of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) aiming at mass rearing and dispersal of this parasitoid in sugar cane. The experiments were carried out in Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LCBI) at Instituto de Biotecnologia Aplicada a Agricultura (BIOAGRO) at Universidade Federal de Viçosa (UFV) in Viçosa, Minas Gerais State, in the Laboratório de Entomologia (LE) at Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) at Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) and in a comercial crop of sugar cane of Empresa Dourados S/A - Açúcar e Álcool in Dourados, Mato Grosso do Sul State. Two species of Lepidoptera: *A. gemmatalis* and *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) were reared in artificial diet and the natural enemy, *T. diatraeae*, on these Lepidoptera. Experiments with the objective of the development of *T. diatraeae* on *A. gemmatalis* pupae kept at temperatures of (18, 20, 22, 25, 28, 30 e 32°C); number of offspring from female of *T. diatraeae* at 24, 48, 72 or 96 hours of age on *A. gemmatalis* pupae at the same ages; number of offspring of *T. diatraeae* on *A. gemmatalis* pupae after being stored at zero or 5°C for one, three, six, nine or 12 days and dispersal of *T. diatraeae* in commercial crops of sugar cane were performed. Experiments were kept at $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ of relative humidity and 14 hours of photophase and parasitism, emergency, number of offspring, longevity, sex ratio, width of cephalic capsule, length of life cycle of the descendants (males and females) and dispersal of *T. diatraeae* in sugar cane were the principal biological parameters quantified. Length of biological cycle (egg-adult) reduced from 37.72 to 16.00 days when temperature increased from 18 to 30°C, respectively. Emergency and number of offspring of *T. diatraeae* were greater in the temperature range from 22 to 25°C, respectively. Threshold temperature and thermal constant (K) were 8.40°C and 328.41 degree-days, respectively. Emergency, number of offspring, cycle length, sex ratio, longevity and width of cephalic capsule of males and females of *T. diatraeae* showed the same response when the effect age of pupae and female of parasitoid was evaluated. Thus, pupae of *A. gemmatalis* at up to 96 hours of age can be used for mass rearing of *T. diatraeae* using females at up to 96 hours of age. Cold storage (zero or 5°C) of pupae of *A. gemmatalis* not

parasitized and with immature stage (pupae) of *T. diatraeae* in it, negatively affects reproduction of this parasitoid. Parasitism was reduced as releasement distance increased. However, females of *T. diatraeae* found and parasitized *D. saccharalis* pupae up to 12 meters from the releasement point, and this is the value of a preliminary approximation of dispersal of *T. diatraeae* on sugar cane at seven months of age of ratoon because of the complexity of factors involved in the field experiments.

INTRODUÇÃO GERAL

INTRODUÇÃO GERAL

Parasitóides são importantes agentes reguladores de populações de insetos de diferentes ordens (Pennacchio & Strand 2006). A maioria dos parasitóides pertence às ordens Hymenoptera e Diptera com, aproximadamente, 50.000 espécies descritas de himenópteros parasitóides (van Driesche & Bellows 1996). Podem ser endoparasitóides ou ectoparasitóides; idiobiontes ou coinobiontes; solitários ou gregários; primários ou hiperparasitóides; especialistas ou generalistas com potencial para o controle biológico (Noyes 2003, Gauthier *et al* 2000, Hansson 2004) por meio de liberações inundativas (Pratissoli *et al* 2005, Mendel *et al* 2007, Pastori *et al* 2008a, Pereira *et al* 2008ab) para regular populações de insetos-praga em culturas agrícolas e florestais (Leite *et al* 2006, Doganlar & Mendel 2007).

No Brasil, diversas espécies de parasitóides são estudadas e utilizadas em programas de controle biológico, destacando-se o controle biológico da broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae), realizado por meio de liberações inundativas do parasitóide larval *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae), produzido comercialmente em dezenas de laboratórios (usinas de açúcar, destilarias de álcool, cooperativas de produtores, empresas especializadas e universidades) (Botelho *et al* 1999) sendo o exemplo de programa de controle biológico mais bem sucedido no mundo (Botelho & Macedo 2002). A associação de *C. flavipes* com o parasitóide *Trichogramma* sp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) apresenta vantagem pois este último parasita o ovo da broca-da-cana e evita que a lagarta inicie o ataque ao colmo da cana (Botelho *et al* 1999, Pereira-Barros *et al* 2005). Essa associação pode reduzir em mais de 60% o índice de infestação da broca-da-cana (Pinto *et al* 2006).

O endoparasitóide pupal *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) parasita e se desenvolve em diversos hospedeiros (Paron & Berti Filho 2000, Pereira *et al* 2008a) acarretando a morte desses ao final do seu desenvolvimento (Bittencourt & Berti Filho 2004). Esse inimigo natural foi relatado em pupas de *Diatraea venosata* (Walker) (Lepidoptera: Crambidae) no sul da Índia (Cherian & Margabandhu 1942). No Brasil, foi registrado em pupas de Lepidoptera das famílias: Arctiidae (Paron & Berti Filho 2000), Oecophoridae (Oliveira *et al* 2001) e Geometridae (Pereira *et al* 2008a, Zaché *et al* 2010) e, é considerado agente potencial para o controle biológico de pragas em culturas de grande importância como: cana-de-açúcar, milho e algodão em países da África, Ásia e Américas (Bouček 1976). O hábito generalista desse parasitóide pupal abriu perspectivas para sua utilização no controle biológico da broca-da-cana (Fávero 2009, Rodrigues 2010).

A utilização de parasitóides depende da escolha do hospedeiro alternativo adequado para sua criação massal (Paron & Berti Filho 2000, Pratissoli *et al* 2003b, Jervis *et al* 2008, Andrade *et al* 2010) e da resposta funcional no hospedeiro alvo (Coudron *et al* 1997). Esses

inimigos naturais devem ser criados em hospedeiros alternativos com baixo custo de produção e sem comprometimento da performance do parasitóide sobre o hospedeiro natural (Yang *et al* 2006, Häckermann *et al* 2007, Onagbola *et al* 2007). *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) tem ciclo curto de vida, pode ser multiplicada em dieta artificial (Greene *et al* 1976) e sua pupa possibilita o desenvolvimento de *T. diatraeae* em laboratório (Paron & Berti Filho 2000). Conhecer os efeitos de fatores bióticos e abióticos é importante na implementação e eficiência de sistemas de produção massal de parasitóides (Hentz *et al* 1998).

A temperatura influencia a capacidade de parasitismo, a fecundidade, o número de indivíduos e a razão sexual de muitas espécies de parasitóides (Uçkan & Gülel 2002, Gündüz & Gülel 2005, Zanuncio *et al* 2008) e o sucesso da introdução ou desenvolvimento de programas de controle biológico depende de fatores como o conhecimento das exigências térmicas e da influência das condições climáticas (Pratissoli & Parra 2000, Pratissoli *et al* 2003b).

A idade do hospedeiro ou do parasitóide pode afetar o parasitismo, número, tamanho de indivíduos da progênie e comprometer o desempenho reprodutivo com implicações na criação massal, nos experimentos de laboratório e na seleção de indivíduos para liberação no campo (Wang & Liu 2002, Cooperband *et al* 2003, Jiang *et al* 2004, Matos Neto *et al* 2004, Imandeh 2006, Bell & Weaver 2008, Pastori *et al* 2010).

A possibilidade de conservação de hospedeiros em baixas temperaturas, sem perda da capacidade reprodutiva dos parasitóides pode aumentar ou controlar a produção desses agentes de controle biológico (Pratissoli *et al* 2003a, Milward-de-Azevedo *et al* 2004, Carvalho *et al* 2008, Häckermann *et al* 2008, Pereira *et al* 2009).

O objetivo do aprimoramento da criação massal de um parasitóide é a liberação em campo, porém para que o parasitóide possa realizar um controle efetivo, é necessário se conhecer a capacidade de dispersão e determinar o número de pontos de liberação por unidade de área, pois a maior ou menor eficiência de controle da praga-alvo depende desse número (Sá *et al* 1993, Zachrisson & Parra 1998, Pratissoli *et al* 2005, Pastori *et al* 2008ab).

Assim, o objetivo desse trabalho foi estudar parâmetros reprodutivos da criação massal de *T. diatraeae* (desenvolvimento, exigências térmicas, idades, armazenamento de pupas) em pupas de *A. gemmatalis* e a dispersão desse parasitóide em plantio comercial de cana-de-açúcar.

NOTA¹

¹Esta tese está de acordo com as normas da revista científica Neotropical Entomology (2010), com adaptações para as Normas para Redação de Dissertações e Teses da Universidade Federal de Viçosa.

Referências

- Andrade GS, Serrão JE, Zanuncio JC, Zanuncio TV, Leite GLD, Polanczyk RA (2010) Immunity of an alternative host can be overcome by higher densities of its parasitoids *Palmistichus elaeisis* and *Trichospilus diatraeae*. PLoS ONE 5: e13231.
- Bell HA, Weaver RJ (2008) Ability to host regulate determines host choice and reproductive success in the gregarious ectoparasitoid *Eulophus pennicornis* (Hymenoptera: Eulophidae). Physiol Entomol 33: 62-72.
- Bittencourt MAL, Berti Filho E (2004) Desenvolvimento dos estágios imaturos de *Palmistichus elaeisis* Delvare e LaSalle (Hymenoptera, Eulophidae) em pupas de Lepidoptera. Rev Bras Entomol 48: 65-68.
- Botelho PSM, Parra JRP, Chagas Neto JF, Oliveira CPB (1999) Associação do parasitóide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e do parasitóide larval *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) no controle de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. An Soc Entomol Bras 28: 491-496.
- Botelho PSM, Macedo N (2002) *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*. In: Parra JRP, Botelho PSM, Corrêa-Ferreira BS, Bento JM (eds.). Controle biológico no Brasil parasitóides e predadores. São Paulo: Manole, p.409-421.
- Bouček Z (1976) The African and Asiatic species of *Trichospilus* and *Cotterellia* (Hymenoptera, Eulophidae). Bull Entomol Res 65: 669-681.
- Carvalho JS, Vacari AM, Bortoli AS, Viel SR (2008) Efeito do armazenamento de pupas de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) em baixa temperatura. Bol San Veg Plagas 34: 21-26.
- Cherian MC, Margabandhu V (1942) A new species of *Trichospilus* (Hymenoptera: Chalcidoidea) from south India. Indian J Entomol 4: 101-102.
- Cooperband MF, Matthews RW, Vinson SB (2003) Factors affecting the reproductive biology of *Melittobia digitata* and failure to meet the sex ratio predictions of Hamilton's local mate competition theory. Entomol Exp Appl 109: 1-12.
- Coudron TA, Brandt SL, Raqib A (1997) Comparison of the response of *Heliothis virescens* to parasitism by *Euplectrus comstockii* and *Euplectrus plathypenae*. Comp Biochem Physiol 116: 197-202.
- Doganlar M, Mendel Z (2007) First record of the eucalyptus gall wasp *Ophelimus maskelli* and its parasitoid, *Closterocerus chamaeleon*, in Turkey. Phytoparasitica 35: 333-335.
- Fávero K (2009) Biologia e técnicas de criação de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) e *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 63p.

- Gauthier N, LaSalle J, Quicke DLJ, Godfray HCJ (2000) Phylogeny of Eulophidae (Hymenoptera: Chalcidoidea), with a reclassification of Eulophinae and the recognition that Elasmidae are derived eulophids. *Syst Entomol* 25: 521-539.
- Greene GL, Leppla NC, Dickerson WA (1976) Velvetbean caterpillar: A rearing procedure and artificial diet. *J Econ Entomol* 69: 487-488.
- Gündüz A E, Gülel A (2005) Investigation of fecundity and sex ratio in the parasitoid *Bracon hebetor* Say (Hym.: Braconidae) in relation to parasitoid age. *Turk J Zool* 29: 291-294.
- Häckermann J, Rott AS, Dorn S (2007) How two different host species influence the performance of a gregarious parasitoid: Host size is not equal to host quality. *J Anim Ecol* 76: 376-383.
- Häckermann J, Rott AS, Tschudi-Rein K, Dorn S (2008) Cold stored ectoparasitoid of *Cydia* fruit moths released under different temperature regimes. *BioControl* 53: 857-867.
- Hansson C (2004) Eulophidae of Costa Rica, 2. *Mem Am Entomol Inst* 75: 537p.
- Hentz MG, Ellsworth PC, Naranjo SE, Watson TF (1998) Development, longevity and fecundity of *Chelonus* sp. nr. *curvimaculatus* (Hymenoptera: Braconidae), an egg-larval parasitoid of pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae). *Environ Entomol* 27: 443-449.
- Imandeh NG (2006) Effect of the pupal age of *Calliphora erythrocephala* (Diptera: Calliphoridae) on the reproductive biology of *Melittobia acasta* (Walker) (Hymenoptera: Chalcidoidea: Eulophidae). *Entomol Sci* 9: 7-11.
- Jervis MA, Ellers J, Harvey JA (2008) Resource acquisition, allocation, and utilization in parasitoid reproductive strategies. *Annu Rev Entomol* 53: 361-385.
- Jiang N, Sétamou M, Ngi-Song AJ, Omwega CO (2004) Performance of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) in parasitizing *Chilo partellus* (Lepidoptera: Crambidae) as affected by temperature and host stage. *Biol Control* 31: 155-164.
- Leite GLD, Picanço M, Zanuncio JC, Ecole CC (2006) Factors affecting herbivory of *Thrips palmi* (Thysanoptera: Thripidae) and *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) on the eggplant (*Solanum melongena*). *Braz Arch Biol Technol* 49: 361-369.
- Matos Neto FC, Cruz I, Zanuncio JC, Silva CHO, Picanço MC (2004) Parasitism by *Campoletis flavicincta* on *Spodoptera frugiperda* in corn. *Pesq Agropec Bras* 39: 1077-1081.
- Mendel Z, Protasov A, Blumberg D, Brand D, Saphir N, Madar Z, LaSalle J (2007) Release and recovery of parasitoids of the eucalyptus gall wasp *Ophelimus maskelli* in Israel. *Phytoparasitica* 35: 330-332.
- Milward-de-Azevedo EMV, Serafin I, Piranda EM, Gulas-Gomes CC (2004) Desempenho reprodutivo de *Nasonia vitripennis* Walker (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas crioconservadas de *Chrysomia megacephala* Fabricius (Diptera: Calliphoridae): Avaliação preliminar. *Cienc Rural* 34: 207-211.

- Noyes J (2003) Universal Chalcidoidea Database. <<http://www.nhm.ac.uk/researchcuration/projects/chalcids/>>. Acesso em: 10/12/2008.
- Oliveira MAS, Junqueira NTV, Icuma IM, Alves RT, Oliveira JNS, Andrade GA (2001) Incidência de danos da broca do fruto da graviola no Distrito Federal. Planaltina: Embrapa-CPAC, p.1-5 (Comunicado Técnico n. 51)
- Onagbola EO, Fadamiro HY, Mbata GN (2007) Longevity, fecundity, and progeny sex ratio of *Pteromalus cerealellae* in relation to diet, host provision, and mating. Biol Control 40: 222-229.
- Paron MR, Berti Filho E (2000) Capacidade reprodutiva de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de diferentes hospedeiros (Lepidoptera). Sci Agric 57: 355-358.
- Pastori PL, Monteiro LB, Botton M (2008a) Capacidade de dispersão de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em pomar adulto de macieira. Bol San Veg Plagas 34: 239-245.
- Pastori PL, Monteiro LB, Botton M, Souza A, Poltronieri AS, Schuber JM (2008b) Parasitismo de ovos da lagarta-enroladeira-da-maçã em função do número de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) liberado. Sci Agrar 9: 497-504.
- Pastori PL, Monteiro LB, Botton M, Pratissoli D (2010) Efeito da idade do parasitóide e do hospedeiro na reprodução de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Bonagota salubricola* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae). Arq Inst Biol 77: 349-353.
- Penacchio F, Strand MR (2006) Evolution of developmental strategies in parasitic Hymenoptera. Ann Rev Entomol 51: 233-58.
- Pereira-Barros JL, Broglio-Micheletti MF, Santos AJN, Carvalho LWT, Carvalho LHT, Oliveira CJT (2005) Aspectos biológicos de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) criados em ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). Cienc Agrotec 29: 714-718.
- Pereira FF, Zanuncio JC, Tavares MT, Pastori PL, Jacques GC, Vilela EF (2008a) New record of *Trichospilus diatraeae* as a parasitoid of the eucalypt defoliator *Thyrintea arnobia* in Brazil. Phytoparasitica 36: 304-306.
- Pereira FF, Zanuncio TV, Zanuncio JC, Pratissoli D, Tavares MT (2008b) Species of Lepidoptera defoliators of eucalypt as new hosts for the polyphagous parasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). Braz Arch Biol Technol 51: 259-262.
- Pereira FF, Zanuncio JC, Serrão JE, Pastori PL, Ramalho FS (2009) Reproductive performance of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera; Eulophidae) with previously refrigerated pupae of *Bombyx mori* (Lepidoptera; Bombycidae). Braz J Biol 69: 865-869.

- Pinto AS, Cano MAV, Santos EM (2006) A broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* In: Pinto AS (ed.). Controle de pragas da cana-de-açúcar. Sertãozinho: Biocontrol, 64p. (Boletim Técnico Biocontrol, n.1).
- Pratissoli D, Parra JRP (2000) Desenvolvimento e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley, criados em duas traças do tomateiro. Pesq Agropec Bras 35: 1281-1288.
- Pratissoli D, Vianna UR, Oliveira HN, Pereira FF (2003a). Efeito do armazenamento de ovos de *Anagasta kuehniella* (Lep.: Pyralidae) nas características biológicas de três espécies de *Trichogramma* (Hym.: Trichogrammatidae). Ceres 50: 95-105.
- Pratissoli D, Fornazier MJ, Holtz AM, Gonçalves JR, Chioramital AB, Zago HB (2003b) Ocorrência de *Trichogramma pretiosum* em áreas comerciais de tomate, no Espírito Santo, em regiões de diferentes temperaturas. Horti Bras 21: 73-76.
- Pratissoli D, Viana UR, Zago HB, Pastori PL (2005) Capacidade de dispersão de *Trichogramma pretiosum* em tomate estaqueado. Pesq Agropec Bras 40: 613-616.
- Rodrigues MAT (2010) Exigências térmicas e hídricas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 52p.
- Sá LAN, Parra JRP, Silveira Neto S (1993) Capacidade de dispersão de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 para controle de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) em milho. Sci Agr 50: 226-231.
- Uçkan F, Gülel A (2002) Age-related fecundity and sex ratio variation in *Apanteles galleriae* (Hymenoptera: Braconidae) and host effect on fecundity and sex ratio of its hyperparasitoid *Dibrachys boarmiae* (Hym.: Pteromalidae). J Appl Entomol 126: 534-537.
- van Driesche RG, Bellows Jr TS (1996) Biological control. New York : Chapman & Hall, 1996. 539p.
- Wang X-G, Liu S-S (2002) Effects of host age on the performance of *Diadromus collaris*, a pupal parasitoid of *Plutella xylostella*. BioControl 47: 293-307.
- Zaché B, Wilcken CF, Dacosta RR, Soliman EP (2010) *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), a new parasitoid of *Melanolophia consimilaria* (Lepidoptera: Geometridae). Phytoparasitica 38: 355-357.
- Zachrisson B, Parra JRP (1998) Capacidade de dispersão de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 para o controle de *Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818 em soja. Sci Agr 55: 133-137.
- Zanuncio JC, Pereira FF, Jacques GC, Tavares MT, Serrão JE (2008) *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae), a new alternative host to rear the pupae parasitoid *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae). Coleopt Bull 62: 64-66.
- Yang Z-Q, Wei J-R, Wang X-Y (2006) Mass rearing and augmentative releases of the native parasitoid *Chouioia cunea* for biological control of the introduced fall webworm *Hyphantria cunea* in China. BioControl 51:401-418.

CAPÍTULO I

**Desenvolvimento e Exigências Térmicas de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu
(Hymenoptera: Eulophidae) Criado em Pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner)
(Lepidoptera: Noctuidae)**

**Desenvolvimento e Exigências Térmicas de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu
(Hymenoptera: Eulophidae) Criado em Pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner)
(Lepidoptera: Noctuidae)**

RESUMO - A temperatura afeta os processos vitais de todos os organismos vivos e, conhecer seu efeito é fundamental para se planejar o uso de parasitóides em programas de controle biológico. O desenvolvimento e as exigências térmicas de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) foi determinado em pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). Cada pupa do hospedeiro alternativo, com 0-24 horas de idade, foi submetida ao parasitismo por seis fêmeas de *T. diatraeae* durante 24 horas e transferidas para câmaras climatizadas à 18, 20, 22, 25, 28, 30 e 32°C até a emergência dos descendentes do parasitóide. A duração do ciclo biológico (ovo-adulto) de *T. diatraeae* reduziu com o aumento da temperatura de 37,72 para 16,00 dias a 18 e 30°C, respectivamente. O percentual de emergência e o número de descendentes de *T. diatraeae* foram maiores na faixa térmica de 22 à 25°C. A elevação da temperatura aumentou o número de fêmeas com alteração da razão sexual desse parasitóide. A largura da cápsula cefálica de machos e de fêmeas dos descendentes de *T. diatraeae* foi semelhante entre as temperaturas. A temperatura base (Tb) e a constante térmica (K) foram de 8,40°C e 328,41 graus-dia (GD), respectivamente. Temperaturas acima ou abaixo da faixa térmica de 22 à 25°C influenciam negativamente os parâmetros biológicos de *T. diatraeae*.

PALAVRAS-CHAVE: Parasitóides, hospedeiro alternativo, criação massal, temperatura base.

**Development and thermal requirements of *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu
(Hymenoptera: Eulophidae) reared on *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera:
Noctuidae) pupae**

ABSTRACT - Temperature affects vital processes of all living organisms and the knowledge of its effect is fundamental for planning the use of parasitoids in programs of biological control. Development and thermal requirements of *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) was determined on *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) pupae. Each pupae of this alternative host at 0-24 hours of age was submitted to parasitism by six females of *T. diatraeae* for 24 hours and transferred to acclimatized chambers at 18, 20, 22, 25, 28, 30 and 32°C until emergency of this parasitoid. Length of biological cycle (egg-adult) of *T. diatraeae* reduced from 37.72 for 16.00 days when temperature increased from 18 to 30°C, respectively. Emergency of this parasitoid and its

progeny were greater in the temperature range from 22 to 25°C. Increase of temperature increased the number of females and changed the sex ratio of this parasitoid. Width of cephalic capsule of females and males from the progeny of *T. diatraeae* was similar among temperatures. Threshold temperature (Tb) and thermal constant (K) were 8.40°C and 328.41 degree-day, respectively. Temperatures above or below range from 22 to 25°C negatively influence of the biological parameters of *T. diatraeae*.

Key Words: Parasitoids, alternative host, mass rearing, threshold temperature.

Parasitóides são importantes para o equilíbrio de agroecossistemas pela diversidade e altos níveis de parasitismo (Soares *et al* 2009). *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitóide que se desenvolve, principalmente, em pupas de Lepidoptera (Paron & Berti Filho 2000, Ubaidillah 2006, Pereira *et al* 2008) e se reproduz satisfatoriamente em pupas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) (Paron & Berti Filho 2000) e essa, por sua vez, pode ser facilmente criada em dieta artificial (Greene *et al* 1976). Esse inimigo natural foi relatado em pupas de lepidópteros-praga das famílias: Crambidae (Cherian & Margabandhu 1942), Arctiidae (Paron & Berti Filho 2000), Oecophoridae (Oliveira *et al* 2001), Pyralidae (Kazmi & Chauhan 2003) e Geometridae (Pereira *et al* 2008; Zaché *et al* 2010) e apresenta potencial para o controle biológico em culturas de grande importância como: cana-de-açúcar, milho e algodão na África, Ásia e Américas (Bouček 1976, Fávero 2009, Grance 2010).

A densidade populacional de insetos-praga e de seus inimigos naturais varia com suas necessidades térmicas e com o tamanho da área (Haddad *et al* 1999, Krugner *et al* 2007, Lapointe *et al* 2007). O desenvolvimento, a sobrevivência, o metabolismo, a reprodução, a fertilidade, o parasitismo, o comportamento alimentar e a longevidade dos parasitóides (Bittencourt & Berti Filho 2004, Pastori *et al* 2008) tendem a diminuir acima ou abaixo da temperatura “ótima” (Thomazini & Berti Filho 2001, Bazzocchi *et al* 2003).

O estudo das exigências térmicas facilita a compreensão da relação entre a temperatura e o desenvolvimento da espécie-alvo; previsão do número de gerações no campo e a melhor época para controlá-la (Haghani *et al* 2007, Kalaitzaki *et al* 2007, Iranipour *et al* 2010). A determinação da temperatura “ótima”, em laboratório, fornece subsídios para a obtenção do número de parasitóides desejados, com previsão de sobrevivência, duração e capacidade reprodutiva de fêmeas em temperaturas conhecidas (Ferreira *et al* 2003, Pratisoli *et al* 2004, Pereira *et al* 2009). Dessa forma, esse estudo visa avaliar a influência da temperatura sobre o desenvolvimento de *T. diatraeae* em pupas do hospedeiro alternativo *A. gemmatalis* visando a sua criação massal.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LCBI) do Instituto de Biotecnologia Aplicada a Agricultura (BIOAGRO) da Universidade Federal de Viçosa (UFV) em Viçosa, Minas Gerais com as etapas:

Criação de *A. gemmatalis*. Lagartas de *A. gemmatalis* foram criadas em potes plásticos (1.000 mL) com a tampa furada, vedada com organza para aumentar a aeração e alimentadas com dieta artificial proposta por Greene *et al* (1976) a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 14 horas. Os adultos foram mantidos em gaiolas de madeira (33 x 33 x 33 cm) com as laterais teladas e fechada com tampa de vidro. Esses adultos foram alimentados com solução nutritiva embebida em algodão (Greene *et al* 1976). As posturas dessas mariposas foram coletadas em folhas de papel branco dispostas no interior das gaiolas, recortadas e colocadas nos potes de criação com a dieta artificial para continuidade da criação em laboratório.

Criação de *T. diatraeae*. Os adultos de *T. diatraeae* da criação do LCBI foram mantidos em tubos de vidro (14,0 x 2,2 cm), fechados com algodão e alimentados com gotículas de mel puro. Cada pupa de *A. gemmatalis* foi oferecida às fêmeas de *T. diatraeae* recém-emergidas por 24 horas e, após esse período, individualizadas e mantidas à $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa (Rodrigues 2010) e fotofase de 14 horas até a emergência dos adultos (Pereira *et al* 2008).

Desenvolvimento experimental. Pupas de *A. gemmatalis* com até 24 horas de idade foram coletadas da criação do LCBI, pesadas ($176,23 \pm 4,82$ mg) e transferidas para tubos de vidro (14,0 x 2,2 cm) contendo seis fêmeas de *T. diatraeae* recém-emergidas. Os tubos foram fechados com algodão. O número de fêmeas do parasitóide foi determinado em testes preliminares em função do peso das pupas hospedeiras. O parasitismo foi permitido por 24 horas em câmara climatizada, regulada a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 14 horas. Ao final desse período, as fêmeas foram retiradas com pincel de pelos finos sob microscópio estereoscópico e os tubos com as pupas parasitadas, transferidos para câmaras climatizadas a 18, 20, 22, 25, 28, 30 ou 32°C , $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 14 horas.

A duração do ciclo de vida (ovo-adulto), realizada por observações diárias sempre no mesmo horário (14:00 h); a porcentagem de emergência ; o número de parasitóides emergidos; a razão sexual (RS= número de fêmeas/ número de adultos) e a largura da cápsula cefálica de machos e de fêmeas do parasitóide foram avaliados. O sexo de *T. diatraeae* foi determinado pelas características morfológicas da antena e abdome (Paron 1999).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com sete tratamentos (temperaturas) e 12 repetições, constituídas por um grupo de quatro pupas de *A. gemmatalis*

e 10 e 20 repetições constituídas por 10 machos e 20 fêmeas, escolhidos(as) nos descendentes de cada tratamento para largura da cápsula cefálica de machos e de fêmeas, respectivamente. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e os modelos escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão utilizando o teste “t” de Student adotando o nível de 5% de probabilidade, no coeficiente de determinação ($R^2 = \text{SQReg} / \text{SQTotal}$) e no fenômeno biológico estudado.

Determinação das exigências térmicas de *T. diatraeae*. O cálculo da temperatura base (T_b) e da constante térmica (K) foram obtidos pelo método da hipérbole (Haddad *et al* 1999), baseando-se na duração do ciclo de vida (ovo-adulto) nas temperaturas estudadas.

Resultados

A duração do ciclo biológico (ovo-adulto) de *T. diatraeae* em pupas de *A. gemmatilis* apresentou relação inversa com a elevação da temperatura e variou de 37,72 para 16,00 dias (2,35 vezes) na faixa de 18 à 30°C ($F = 173,1081$; $p = <0,0001$) (Fig. 1A). O tempo de desenvolvimento desse parasitóide decresceu com o aumento da temperatura, mas não completou seu desenvolvimento à 32°C em pupas de *A. gemmatilis* e, por isto, os demais parâmetros biológicos não puderam ser avaliados nessa temperatura.

A porcentagem de emergência de *T. diatraeae* foi maior na faixa térmica de 22 à 25°C, com ponto de máximo à 23,7°C e menor nas temperaturas extremas (18 e 30°C) ($F = 56,9076$; $p = <0,0001$) (Fig. 1B).

O número de parasitóides (descendentes) emergidos de pupas de *A. gemmatilis* variou de 41,86 à 251,28, com menor valor nas temperaturas extremas (18, 28 e 30°C) e maior na faixa de 22 à 25°C com ponto de máximo à 23,0°C ($F = 14,8866$; $p = <0,0001$) (Fig. 2A).

A razão sexual dos parasitóides emergidos variou de 0,89 a 0,97 no intervalo de 18 à 30°C, aumentando com a elevação da temperatura ($F = 14,9035$; $p = <0,0004$) (Fig. 2B).

A largura da cápsula cefálica de machos e de fêmeas dos descendentes de *T. diatraeae* foi semelhante entre as temperaturas estudadas com valor médio de 0,49 mm para machos ($F = 0,614$; $p = 0,6898$) e de 0,77 mm para fêmeas ($F = 0,929$; $p = 0,4694$).

As exigências térmicas de *T. diatraeae* (ovo-adulto) em pupas de *A. gemmatilis* foram determinadas com o modelo $Y = (1/D) = -0,0256 + 0,030x$ ($r^2 = 0,9380$; $F = 60,5401$; $p = \leq 0,00147$), com valores de 8,40°C e 328,41 graus-dia (GD), respectivamente para o limite térmico inferior de desenvolvimento (temperatura base - T_b) e constante térmica (K) (Fig. 3).

Discussão

Trichospilus diatraeae se desenvolve com sucesso em pupas de *A. gemmatilis* na faixa térmica de 22 à 25°C e cessa seu desenvolvimento biológico à 32°C, indicando que seu limite

térmico superior se encontra abaixo dessa última temperatura. Essa definição é importante pois esse fator abiótico (temperatura) é crítico para a dinâmica populacional e estabelece os limites das atividades biológicas dos principais processos vitais de insetos (Haghani *et al* 2007, Sandanayaka & Ramankutty 2007). No entanto, estudos em laboratório com temperaturas constantes não consideram o desenvolvimento individual de cada fase de vida do parasitóide e a variação no campo (Haghani *et al* 2007, Krugner *et al* 2007) além de superestimar a mortalidade em temperaturas inferiores e superiores (Sandanayaka & Ramankutty 2007). Por isso, *T. diatraeae* poderia completar seu desenvolvimento em campo com temperaturas superiores à 30°C desde que não coincidisse com seus estágios críticos de desenvolvimento, como relatado para *Quadrastichus citrella* Reina & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) que suportou temperaturas nos limites (13 e 39°C) no hospedeiro *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) (Llàcer *et al* 2006). Assim, isso deve ser estudado com temperaturas flutuantes para *T. diatraeae*, o que é fundamental para aplicação prática desse parasitóide no controle biológico (Golizadeh *et al* 2008).

A temperatura ideal para *T. diatraeae* na faixa de 22 à 25°C concorda com o relatado para essa mesma espécie em *D. saccharalis* (Paron 1999, Rodrigues 2010) e para *Thripobius semiluteus* Bouček (Hymenoptera: Eulophidae) (Bernardo *et al* 2005) e sugere que as populações dessas espécies sejam pouco adaptadas às temperaturas constantes acima de 30°C como relatado para *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Eulophidae), *Diadegma anurum* (Thomson) (Hymenoptera: Ichneumonidae), *Fidiobia dominica* Evans (Hymenoptera: Platygasteridae), *Aprostocetus vaquitarum* Wolcott (Hymenoptera: Eulophidae) e *Phygadeuon pectinicornis* (Linnaeus) (Hymenoptera: Eulophidae) com limites térmicos superiores abaixo de 30°C em *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), *Diaprepes abbreviatus* (Linnaeus) (Coleoptera: Curculionidae) e *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae), respectivamente (Ferreira *et al* 2003, Ulmer *et al* 2006, Kalaitzaki *et al* 2007, Golizadeh *et al* 2008, Jacas *et al* 2008). *Palmistichus elaeis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) teve melhor desenvolvimento à 22°C com *A. gemmatilis*, *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae), *Heliothis virescens* (Fabricius), *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Thyrinteina arnobia* (Stoll) (Lepidoptera: Geometridae) (Bittencourt & Berti Filho 2004). Características térmicas variam entre espécies, populações, estágios de desenvolvimento (Pratissoli *et al* 2003, Ulmer *et al* 2006, Pastori *et al* 2008, Iranipour *et al* 2010), hospedeiros (Bittencourt & Berti Filho 2004) e fatores ecológicos como fonte de alimento (Roy *et al* 2002, 2003, Pandey & Tripathi 2008). Assim, populações de *T. diatraeae* podem apresentar resposta diferenciada à temperatura no mesmo hospedeiro, *D. saccharalis*, com limite superior diferenciado (Paron 1999, Rodrigues 2010).

A faixa térmica “ótima” para o desenvolvimento de um parasitóide é ferramenta

importante na programação da criação em laboratório para que se possa sincronizar a emergência de adultos do parasitóide com seu hospedeiro-alvo no campo e melhorar a eficiência da criação massal e de programas de liberação (Sagarra *et al* 2000, Krugner *et al* 2007, Bueno *et al* 2008) pois temperaturas extremas, no campo, durante o verão e inverno afetam a eficiência de parasitóides nos programas de controle biológico (Goolsby *et al* 2005, Llàcer *et al* 2006, Kalaitzaki *et al* 2007). No entanto, podem também, prejudicar o inseto-praga, quando o parasitóide apresenta co-evolução com o hospedeiro (Lapointe *et al* 2007) e essas relações não são conhecidas para *T. diatraeae* e seus hospedeiros.

O menor percentual de emergência de *T. diatraeae*, principalmente à 30°C e sem emergência à 32°C, reforça a hipótese de redução de eficácia dessa população desse parasitóide pela exposição às temperaturas extremas. Isso também foi relatado para *Macrocentrus iridescens* French (Hymenoptera: Braconidae) à 31°C (Krugner *et al* 2007), mostrando que o desenvolvimento de insetos tende a ser menor fora dos valores “ótimos” de temperatura (Thomazini & Berti Filho 2001, Bazzocchi *et al* 2003). A mortalidade do parasitóide em altas temperaturas pode estar relacionada ao aumento da taxa metabólica, pois, quando a temperatura se aproxima do limite superior letal, a taxa de metabolismo reduz drasticamente (Bueno *et al* 2008, Pandey & Tripathi 2008) e no extremo de temperatura, ocorre atraso no desenvolvimento devido à alimentação subótima (van Steenis 1994) e em baixas temperaturas à mortalidade do hospedeiro, uma vez que temperaturas abaixo de 20°C são inadequadas para *A. gemmatilis* (Magrini *et al* 1996).

O maior número de descendentes de *T. diatraeae* na faixa térmica de 22 à 25°C indica adaptabilidade, mas esse parâmetro não sofreu redução nas demais temperaturas, exceto acima de 28°C e manteve número satisfatório de indivíduos (Paron & Berti Filho 2000; Grance 2010).

O menor número de descendentes de *T. diatraeae* em temperaturas extremas alterou a razão sexual e não alterou a largura da cápsula cefálica de machos e de fêmeas desse parasitóide. Isso mostra que machos e fêmeas imaturos de *T. diatraeae* sofreram efeito diferenciado de temperaturas extremas, com interefência na razão sexual mas não no tamanho dos mesmos. Variação na razão sexual pode beneficiar ou prejudicar a aplicação prática do controle biológico (Heimpel & Lundgren 2000, Favero 2009), mas deve-se buscar uma razão sexual com maior número de fêmeas pois os machos não contribuem para o parasitismo (Pandey & Tripathi 2008, Zanuncio *et al* 2008).

As exigências térmicas [limite térmico inferior de desenvolvimento (Tb) e a constante térmica (K)] de *T. diatraeae* foram determinadas por um modelo linear que é utilizado por requerer poucos dados para a formulação, ser de fácil aplicação e cálculo e, geralmente apresentar um valor resultante com diferenças negligenciáveis na precisão de modelos mais

complexos (Haghani *et al* 2007, Iranipour *et al* 2010). Além disso, é o método mais simples e fácil para estimar a constante térmica (K) (Worner 1992). Os valores de exigências térmicas de *T. diatraeae* obtidos em *A. gemmatalis* são próximos aos encontrados por Paron (1999) ($T_b = 8,0^{\circ}\text{C}$ e $K = 371,88$ graus-dia (GD) e por Rodrigues (2010) ($T_b = 9,37^{\circ}\text{C}$ e $K = 257,60$ graus-dia (GD) ambos em *D. saccharalis*. As exigências térmicas de um parasitóide variam com o hospedeiro, como relatado para *P. elaeisis*, onde a constante térmica de ovo-adulto variou de 353,1 a 407,7 graus-dia e o limite térmico inferior de desenvolvimento de 5,0 a 7,5°C em *A. gemmatalis*, *D. saccharalis*, *H. virescens*, *S. frugiperda* e *T. arnobia* (Bittencourt & Berti Filho 2004).

Nas condições estudadas, *T. diatraeae* se desenvolverá mais rápido que seu hospedeiro alternativo *A. gemmatalis*, uma vez que esse parasitóide apresenta exigências térmicas inferiores ao do hospedeiro que possui temperatura base (T_b) de 13,9°C e constante térmica (K) de 337,6 graus-dia (Magrini *et al* 1996). A aplicação de parasitóides em programas de controle biológico depende de seu desenvolvimento ser mais rápido e apresentar maior número de gerações que o hospedeiro na mesma temperatura. Por outro lado, se o hospedeiro se desenvolver mais rápido que o parasitóide, a flutuação populacional da praga aumenta rapidamente e o parasitóide não responde numericamente, o que prejudicaria o controle (Ferreira *et al* 2003, Kalaitzaki *et al* 2007, Krugner *et al* 2007, Pastori *et al* 2008).

O desenvolvimento satisfatório de *T. diatraeae* em pupas de *A. gemmatalis* (hospedeiro alternativo) indica que esse inimigo natural pode ser criado em laboratório e com testes de eficiência e aplicabilidade ser utilizado em programas de controle biológico.

Conclusões

A elevação da temperatura aumentou a velocidade de desenvolvimento de *T. diatraeae* em pupas de *A. gemmatalis*.

A temperatura base (T_b) e a constante térmica (K) de *T. diatraeae* em pupas de *A. gemmatalis* é de 8,40°C e 328,41 graus-dia (GD), respectivamente.

Na faixa térmica de 22 à 25°C, *T. diatraeae* apresenta melhor desempenho reprodutivo em pupas de *A. gemmatalis*.

Agradecimentos

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

Referências

- Bazzocchi GG, Lanzoni A, Burgio G, Fiacconi MR (2003) Effects of temperature and host on the pré-imaginal development of the parasitoid *Diglyphus isaea* (Hymenoptera: Eulophidae). Biol Control 26: 74-82.
- Bittencourt MAL, Berti Filho E (2004) Exigências térmicas para o desenvolvimento de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera, Eulophidae) em pupas de cinco espécies de lepidópteros. Iheringia Ser Zool 94: 321-323.
- Bernardo U, Viggiani G, Sasso R (2005) Biological parameters of *Thripobius semiluteus* Bouček (Hym., Eulophidae), a larval endoparasitoid of *Heliothrips haemorrhoidalis* (Bouché) (Thysan., Thripidae). J Appl Entomol 129: 250-257.
- Bouček Z (1976) The African and Asiatic species of *Trichospilus* and *Cotterellia* (Hymenoptera: Eulophidae). Bull Entomol Res 65: 669-681.
- Bueno RCOF, Carneiro TR, Pratissoli D, Bueno AF, Fernandes OA (2008) Biology and thermal requirements of *Telenomus remus* reared on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* eggs. Cienc Rural 38: 01-06.
- Cherian MC, Margabandhu V (1942) A new species of *Trichospilus* (Hymenoptera: Chalcidoidea) from South India. Indian J Entomol 4: 101-102.
- Fávero K (2009) Biologia e técnicas de criação de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) e *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 63p.
- Ferreira SWJ, Barros R, Torres JB (2003) Exigências térmicas e estimativa do número de gerações de *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Eulophidae), para regiões produtoras de crucíferas em Pernambuco. Neotrop Entomol 32: 407-411.
- Golizadeh A, Kamali K, Fathipour Y, Abbasipour H (2008) Life table and temperature-dependent development of *Diadegma anurum* (Hymenoptera: Ichneumonidae) on its host *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). Environ Entomol 37: 38-44.
- Goolsby JA, DeBarro PJ, Kirk AA, Sutherst RW, Canas L, Ciomperlik MA, Ellsworth PC, Gould JR, Hartley DM, Koelmer KA, Naranjo SE, Rose M, Roltsch WJ, Ruiz RA, Pickett CH, Vacek DC (2005) Post-release evaluation of biological control of *Bemisia tabaci* biotype "B" in the USA and the development of predictive tools to guide introductions for other countries. Biol Control 32: 70-77.
- Grance ELV (2010) Potencial de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 53p.
- Greene GL, Leppla NC, Dickerson WA (1976) Velvetbean caterpillar: A rearing procedure and

- artificial diet. J Econ Entomol 69: 487-488.
- Haddad ML, Parra JRP, Moraes RCB (1999) Métodos para estimar os limites térmicos inferior e superior de desenvolvimento de insetos. Piracicaba: FEALQ, 29 p.
- Haghani M, Fathipour Y, Talebi AA, Baniameri V (2007) Temperature-dependent development of *Diglyphus isaea* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) on cucumber. J Pest Sci 80: 71-77.
- Heimpel GE, Lundgren JG (2000) Sex ratios of commercially reared biological control agents. Biol Control 19: 77-93.
- Iranipour S, Bonab ZN, Michaud JP (2010) Thermal requirements of *Trissolcus grandis* (Hymenoptera: Scelionidae), an egg parasitoid of sunn pest. Eur J Entomol 107: 47-53.
- Jacas JA, Peña JE, Duncan RE, Ulmer BJ (2008) Thermal requirements of *Fidiobia dominica* (Hymenoptera: Platygasteridae) and *Haeckeliana sperata* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), two exotic egg parasitoids of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae). BioControl 53: 451-460.
- Kalaitzaki AP, Lykouressis DP, Perdakis DCH, Alexandrakis VZ (2007) Effect of temperature on development and survival of the parasitoid *Pnigalio pectinicornis* (Hymenoptera: Eulophidae) reared on *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). Environ Entomol 36: 497-505.
- Kazmi SI, Chauhan N (2003) Chalcidoid parasitoids (Hymenoptera: Chalcidoidea) of *Hypsipyla robusta* (Lepidoptera: Pyralidae), a pest of cedars and mahogany. Orient Insects 37: 261-275.
- Krugner R, Daane KM, Lawson AB, Yokota GY (2007) Temperature-dependent development of *Macrocentrus iridescens* (Hymenoptera: Braconidae) as a parasitoid of the obliquebanded leafroller (Lepidoptera: Tortricidae): Implications for field synchrony of parasitoid and host. Biol Control 42: 110-118.
- Lapointe SL, Borchert DM, Hall DG (2007) Effect of low temperatures on mortality and oviposition in conjunction with climate mapping to predict spread of the root weevil *Diaprepes abbreviatus* and introduced natural enemies. Environ Entomol 36:73-82.
- Llàcer E, Urbaneja A, Garrido A, Jacas JA (2006) Temperature requirements may explain why the introduced parasitoid *Quadrastichus citrella* (Hymenoptera: Eulophidae) failed to control *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in Spain. BioControl 51: 439-452.
- Magrini EA, Silveira Neto S, Parra JRP, Botelho PSM, Haddad ML (1996) Biologia e exigências térmicas de *Anticarsia gemmatilis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) em laboratório. An Soc Entomol Brasil 25: 513-519.
- Oliveira MAS, Junqueira NTV, Icuma IM, Alves RT, Oliveira JNS, Andrade GA (2001) Incidência de danos da broca do fruto da graviola no Distrito Federal. Planaltina: Embrapa-CPAC, p.1-5

(Comunicado Técnico n. 51)

- Pandey AK, Tripathi COM (2008) Effect of temperature on the development, fecundity, progeny sex ratio and life-table of *Campoletis chlorideae*, an endolarval parasitoid of the pod borer, *Helicoverpa armigera*. BioControl 53: 461-471.
- Paron MR (1999) Bioecologia de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), endoparasitóide de pupas de Lepidoptera. Tese de Doutorado, ESALQ/USP, Piracicaba, 57p.
- Paron MR, Berti Filho E (2000) Capacidade reprodutiva de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de diferentes hospedeiros (Lepidoptera). Sci Agric 57: 355-358.
- Pastori PL, Monteiro LB, Botton M (2008) Biologia e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) linhagem bonagota criado em ovos de *Bonagota salubricola* (Meyrick) (Lepidoptera, Tortricidae). Rev Bras Entomol 52: 472-476.
- Pereira FF, Zanuncio JC, Tavares MT, Pastori PL, Jacques GC, Vilela EF (2008) New record of *Trichospilus diatraeae* as a parasitoid of the eucalypt defoliator *Thyrinteina arnobia* in Brazil. Phytoparasitica 36: 304-306.
- Pereira FF, Zanuncio JC, Serrão JE, Pastori PL, Ramalho FS (2009) Reproductive performance of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera; Eulophidae) with previously refrigerated pupae of *Bombyx mori* (Lepidoptera; Bombycidae). Braz J Biol 69: 865-869.
- Pratissoli D, Fornazier MJ, Holtz AM, Gonçalves JR, Chioramital AB, Zago HB (2003) Ocorrência de *Trichogramma pretiosum* em áreas comerciais de tomate, no Espírito Santo, em regiões de diferentes altitudes. Hortic Bras 21: 73-76.
- Pratissoli D, Fernandes OA, Zanuncio JC, Pastori PL (2004) Fertility life table of *Trichogramma pretiosum* and *Trichogramma acacioi* (Hymenoptera: Tichogrammatidae) on *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae) eggs at different constant temperatures. Ann Entomol Soc Am 97: 729-731.
- Rodrigues MAT (2010) Exigências térmicas e hídricas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 52p.
- Roy M, Brodeur J, Cloutier C (2002) Relationship between temperature and development rate of *Stethorus punctillum* (Coleoptera: Coccinellidae) and its prey *Tetranychus mcdanieli* (Acarina: Tetranychidae). Environ Entomol 31: 177-187.
- Roy M, Brodeur J, Cloutier C (2003) Effect of temperature on intrinsic rate of natural increase (rm) of a coccinellid and its spider mite prey. Biol Control 48: 57-72.
- Sagarra LA, Vincent C, Peters NF, Stewart RK (2000) Effect of host density, temperature, and photoperiod on the fitness of *Anagyrus kamali*, a parasitoid of the hibiscus mealybug

- Maconellicoccus hirsutus*. Entomol Exp Appl 96: 141-147.
- Sandanayaka WRM, Ramankutty P (2007) Temperature dependent emergence and survival of *Platygaster demades* (Hymenoptera: Platygastridae), parasitoid of apple leaf curling midge. Biol Control 42: 41-47.
- Soares MA, Gutierrez CT, Zanuncio JC, Pedrosa ARP, Lorenzon AS (2009) Superparasitismo de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) y comportamiento de defensa de dos hospederos. Rev Colomb Entomol 35: 62-65.
- Thomazini MJ, Berti Filho E (2001) Ciclo biológico, exigências térmicas e parasitismo de *Muscidifurax uniraptor* em pupas de mosca doméstica. Sci Agric 58: 469-473.
- Ubaidillah R (2006) Eulophine parasitoids of the genus *Trichospilus* in Indonesia, with the description of two new species (Hymenoptera: Eulophidae). Entomol Sci 9: 217-222.
- Ulmer BJ, Jacas JA, Peña JE, Duncan RE, Castillo J (2006) Effect of temperature on life history of *Aprostocetus vaquitarum* (Hymenoptera: Eulophidae), an egg parasitoid of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) Biol Control 39: 19-25.
- van Steenis MJ (1994) Intrinsic rate of increase of *Lysiphlebus testaceipes* Cresson (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of *Aphis gossypii* Glover. J Appl Ent 118: 399-404.
- Worner SP (1992) Performance of phenological models under variable temperature regimes: consequences of the Kaufman or rate summation effect. Environ Entomol 21: 689-699.
- Zaché B, Wilcken CF, Dacosta RR, Soliman EP (2010) *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), a new parasitoid of *Melanolophia consimilaria* (Lepidoptera: Geometridae). Phytoparasitica 38: 355-357.
- Zanuncio JC, Pereira FF, Jacques GC, Tavares MT, Serrão JE (2008) *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae), a new alternative host to rear the pupae parasitoid *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae). Coleopt Bull 62: 64-66.

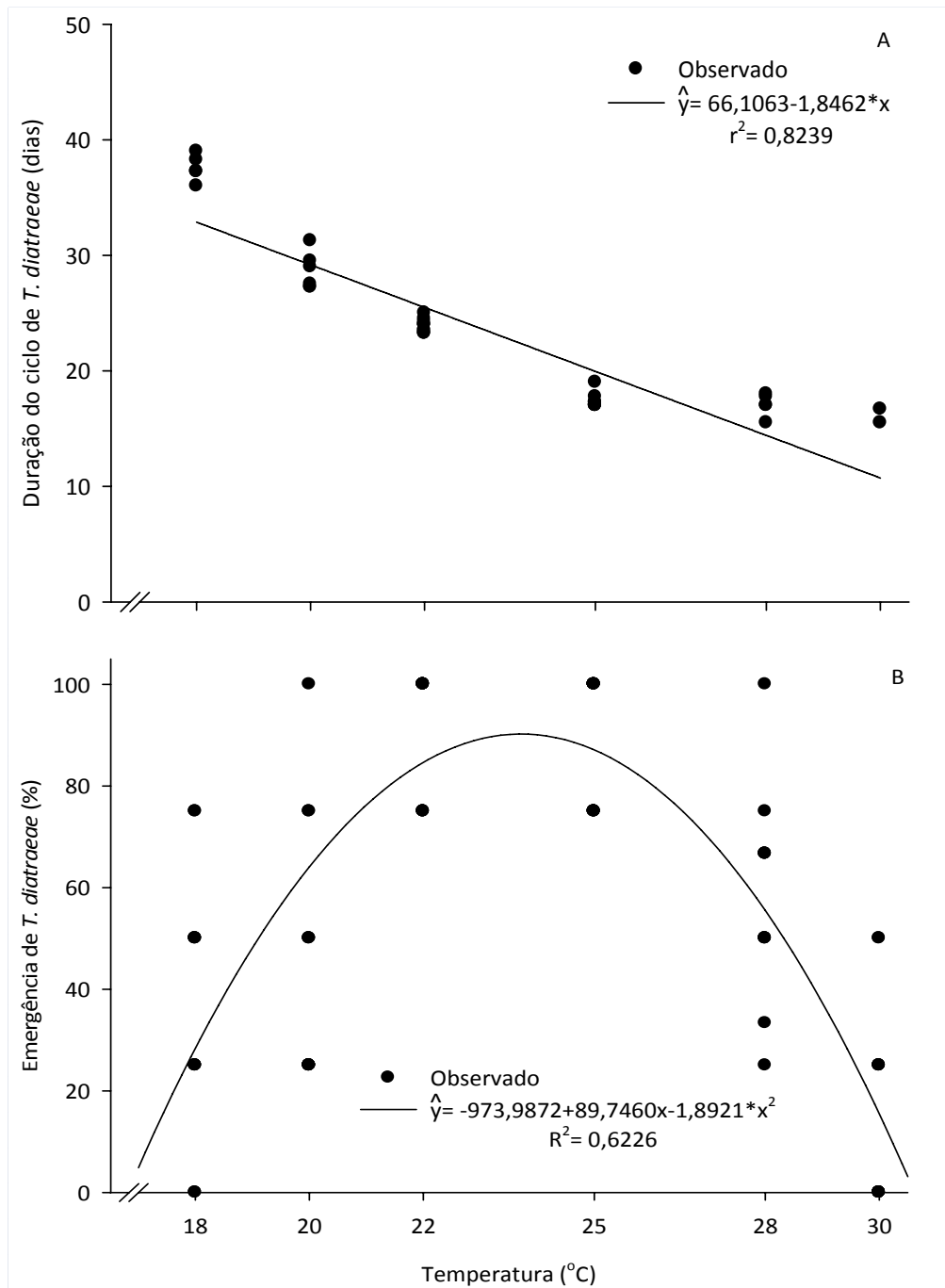


Figura 1. Duração do ciclo de vida (A) e porcentagem de emergência (B) de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) emergidos de pupas de *Anticarsia gemmatilis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes temperaturas constantes. Umidade relativa: $70 \pm 10\%$ e fotofase 14 h.

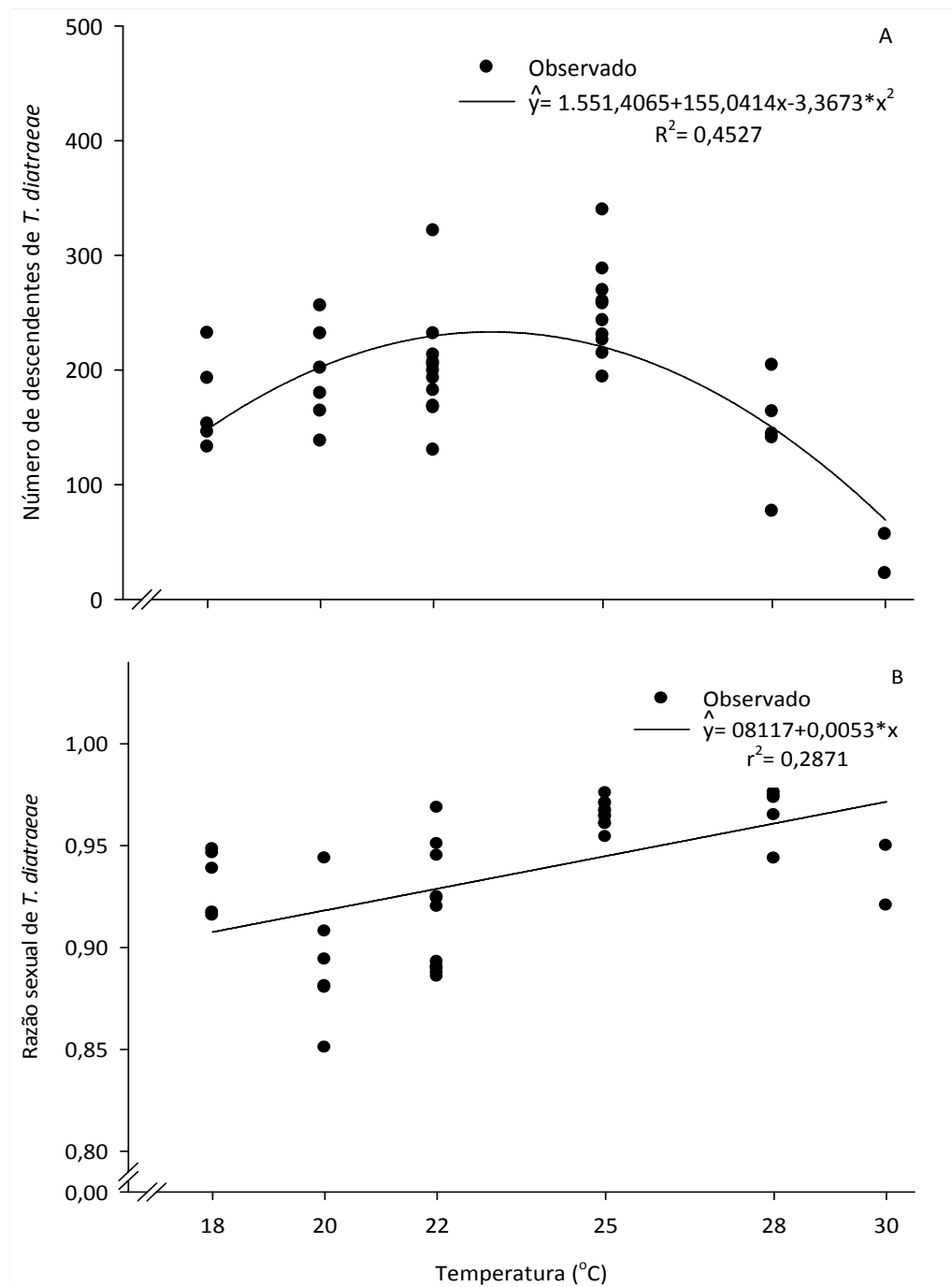


Figura 2. Número de descendentes (A) e razão sexual (B) de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) emergidos de pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes temperaturas constantes. Umidade relativa: $70 \pm 10\%$ e fotofase 14 h.

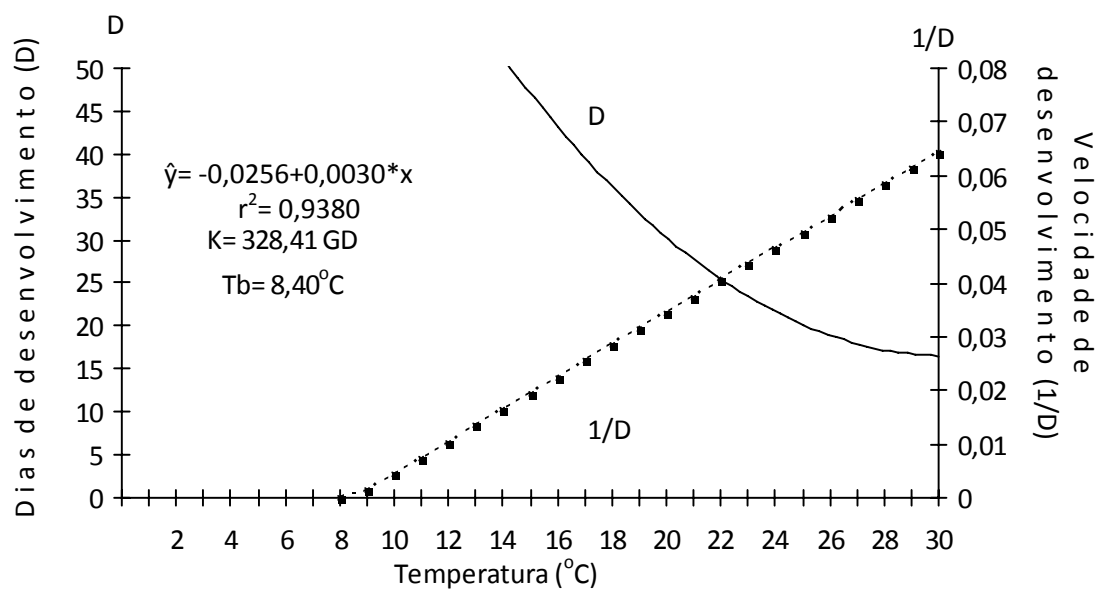


Figura 3. Desenvolvimento (dias) (D) e velocidade de desenvolvimento (1/D) de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) criado em pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes temperaturas constantes. Umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e 14 horas de fotofase.

CAPÍTULO II

**Reprodução de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae)
em Pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) em Relação à Idade
do Parasitóide e Hospedeiro**

Reprodução de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) em Pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) em Relação à Idade do Parasitóide e Hospedeiro

RESUMO - A reprodução de parasitóides apresenta etapas interligadas e a idade de hospedeiros e parasitóides pode afetar o desenvolvimento desses últimos. Características biológicas de fêmeas de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae), com até 96 horas de idade, foram estudadas em pupas do hospedeiro alternativo *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). Cada pupa de *A. gemmatalis* com 0-24, 24-48, 48-72 ou 72-96 horas de idade, foi oferecida ao parasitismo por 10 fêmeas de *T. diatraeae* com 0-24, 24-48, 48-72 ou 72-96 horas de idade, por 24 horas à $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas. A emergência, o número de descendentes, a duração do ciclo, a razão sexual, a longevidade e largura da cápsula cefálica de machos e de fêmeas de *T. diatraeae* apresentaram resposta semelhante para o efeito idade das pupas desse hospedeiro e fêmeas desse parasitóide em conjunto. No entanto, houve redução da emergência, número de descendentes, razão sexual e longevidade das fêmeas de *T. diatraeae* com duração do ciclo se ajustando a uma função quadrática quando avaliou-se apenas o efeito da idade do parasitóide. Pupas de *A. gemmatalis*, com até 96 horas de idade, podem ser usadas para criação massal de *T. diatraeae* utilizando-se fêmeas desse parasitóide com até 96 horas de idade.

PALAVRAS-CHAVE: Criação massal, parasitóides, hospedeiro alternativo.

Reproduction of *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) on *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) pupae in relation to age of the parasitoid and host

ABSTRACT - Reproduction of parasitoids presents interconnected steps and the age of hosts and parasitoids can affect development of parasitoids. Biological parameters of *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae), at up to 96 hours of age were studied on alternative host *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) pupae. Each *A. gemmatalis* pupae at 0-24, 24-48, 48-72 or 72-96 hours of age, was offered to parasitism by 10 females of *T. diatraeae* at 0-24, 24-48, 48-72 or 72-96 hours of age for 24 hours at $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, relative humidity of $70 \pm 10\%$ and photophase of 14 hours. Emergency, number of offspring, length of cycle, sex ratio, longevity and width of cephalic capsule of males and females of *T. diatraeae* showed similar response when effect of age of pupae and females of parasitoid were evaluate jointly. However, emergency, number of

offspring, sex ratio and longevity of females of *T. diatraeae* were reduced as length of cycle were being adjusted to a quadratic function when only effect of age of parasitoid was evaluated. Pupae of *A. gemmatalis* with up to 96 hours of age can be used for mass rearing of *T. diatraeae* using females at up to 96 hours of age.

Key Words: Mass rearing, parasitoids, alternative host.

Fêmeas de parasitóides de vida livre possuem mecanismos para escolha de hospedeiros adequados para suas fases imaturas (Imandeh 2006, Nofemela & Kfir 2008). A oviposição no hospedeiro é determinada por mecanismos olfativos, visuais, táteis, gustativos, sinais químicos, tamanho, idade e estado nutricional do hospedeiro (Harvey & Strand 2002, Nofemela & Kfir 2008) e as fêmeas parasitam o maior hospedeiro disponível para proporcionar mais recursos à seus descendentes (Lin & Ives 2003).

O parasitismo apresenta etapas interligadas (Wang & Liu 2002) e a experiência e idade podem influenciar o comportamento de oviposição (Cooperband *et al* 2003, Chong & Oetting 2007). Parasitóides, freqüentemente, parasitam o hospedeiro na fase/ idade mais favorável a sobrevivência dos imaturos visando o desenvolvimento rápido e produção de adultos maiores (Harvey & Strand 2002, Wang & Liu 2002), mas a qualidade nutricional de pupas hospedeiras pode diminuir com a idade (Wang & Liu 2002).

O parasitóide, *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) tem dimorfismo sexual acentuado (Paron 1999). Suas fêmeas utilizam hospedeiros de várias ordens de insetos como pupas de Lepidoptera (Paron & Berti Filho 2000, Pereira *et al* 2008, Zaché *et al* 2010) e é agente potencial no controle biológico de pragas de cana-de-açúcar, milho e algodão em países da África, Ásia e Américas (Bouček 1976, Fávero 2009, Grance 2010, Rodrigues 2010).

O sucesso de programas de controle biológico com parasitóides depende de interações comportamentais e fisiológicas entre parasitóides e hospedeiros (Amalin *et al* 2005, Pastori *et al* 2010) e isto pode ser melhorado pelo conhecimento de características físicas, químicas e biológicas, incluindo fecundidade, razão sexual e ecologia do hospedeiro e do parasitóide (Uçkan & Gülel 2002, Amalin *et al* 2005).

A reprodução de fêmeas de *T. diatraeae* foi avaliada em pupas do hospedeiro alternativo *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) em relação à idade do parasitóide e hospedeiro visando aprimorar o procedimento de criação massal desse parasitóide.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LCBI) do

Instituto de Biotecnologia Aplicada a Agricultura (BIOAGRO) da Universidade Federal de Viçosa (UFV) em Viçosa, Minas Gerais, com as etapas:

Criação de *A. gemmatalis*. Lagartas de *A. gemmatalis* foram criadas em potes plásticos (1.000 mL) com a tampa furada e vedada com organza para aumentar a aeração e alimentadas com dieta artificial proposta por Greene *et al* (1976) à $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 14 horas. Os adultos foram mantidos em gaiolas de madeira (33 x 33 x 33 cm) com as laterais teladas e fechada com tampa de vidro. Esses adultos foram alimentados com solução nutritiva embebida em algodão (Greene *et al* 1976). As posturas dessas mariposas foram coletadas em folhas de papel branco dispostas no interior das gaiolas, recortadas e colocadas nos potes com a dieta artificial para continuidade da criação em laboratório.

Criação de *T. diatraeae*. Os adultos de *T. diatraeae* da criação do LCBI foram mantidos em tubos de vidro (14,0 x 2,2 cm), fechados com algodão e alimentados com gotículas de mel puro. Cada pupa de *A. gemmatalis* foi oferecida as fêmeas de *T. diatraeae* recém-emergidas por 24 horas e, após esse período, individualizadas e mantidas à $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa (Rodrigues 2010) e fotofase de 14 horas até a emergência de seus adultos (Pereira *et al* 2008).

Desenvolvimento experimental. Cada pupa de *A. gemmatalis* com 0-24, 24-48, 48-72 ou 72-96 horas de idade foi pesada ($202,33 \pm 11,37$ mg) e exposta ao parasitismo por 10 fêmeas de *T. diatraeae* com 0-24, 24-48, 48-72 ou 72-96 horas de idade. As fêmeas foram alimentadas com mel puro e o número utilizado foi determinado em teste preliminar em função do peso das pupas. Parasitóides-hospedeiros foram acondicionados em tubos de vidro (14,0 x 2,2 cm) tampados com algodão por 24 horas à $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 14 horas. A duração do ciclo de vida (ovo-adulto); a porcentagem de parasitismo; a porcentagem de emergência; o número de parasitóides emergidos; a longevidade de machos e de fêmeas, a razão sexual (RS= número de fêmeas/ número de adultos) e a largura da cápsula cefálica de machos e de fêmeas foram avaliados. O sexo dos parasitóides foi determinado pelas características morfológicas da antena e abdome (Paron 1999).

O experimento foi conduzido em esquema fatorial 4 x 4 (idades do parasitóide e do hospedeiro) em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições, constituídas por um grupo de quatro pupas de *A. gemmatalis* e 10 e 20 repetições constituídas por 10 machos e 20 fêmeas, escolhidos(as) nos descendentes de cada tratamento para longevidade e largura da cápsula cefálica de machos e de fêmeas, respectivamente. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e os modelos escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão utilizando o teste “t” de Student adotando o nível de 5% de probabilidade, no coeficiente de determinação ($R^2 = \text{SQReg} / \text{SQTotal}$) e no fenômeno biológico estudado.

Resultados

Na proporção utilizada nesse estudo, o parasitismo por *T. diatraeae* em pupas de *A. gemmatalis* foi 100,0% em todas as combinações de idades (parasitóides x hospedeiros).

A porcentagem de emergência de *T. diatraeae* não apresentou interação entre as idades do parasitóide e hospedeiro ($F= 1,623$; $p= 0,150571$) e entre idade do hospedeiro ($F= 2,667$; $p= 0,064381$) (Tabela 1) mas, isoladamente o aumento da idade do parasitóide reduziu esse parâmetro ($F= 7,304$; $p= 0,000728$) com os dados ajustando-se à uma equação linear (Tabela 3).

O número de descendentes de *T. diatraeae* não foi afetado pela idade de pupas de *A. gemmatalis* ($F= 0,88806$; $p= 0,461463$) e pela interação (idade de pupas x idade de parasitóides) ($F= 0,6353$; $p= 0,758455$) (Tabela 1) mas, houve efeito em função da idade dos parasitóides ($F= 4,3761$; $p= 0,010864$) com os dados ajustando-se à uma equação linear (Tabela 3).

A duração do ciclo de vida de *T. diatraeae* variou de 16,11 à 19,17 dias e foi semelhante quando analisada na interação entre as idades (parasitóides x hospedeiros) ($F= 0,93$; $p= 0,511657$) e na idade do hospedeiro *A. gemmatalis* ($F= 0,53$; $p= 0,667917$) (Tabela 1), porém significativa quando analisada em função da idade dos parasitóides ($F= 10,62$; $p= 0,000053$) ajustando-se a uma função quadrática (Tabela 3).

A interação entre idades (parasitóide x hospedeiro) ($F= 0,4$; $p= 0,914396$) e idade do hospedeiro ($F= 0,8$; $p= 0,498073$) não afetaram a razão sexual de *T. diatraeae* (Tabela 1), mas houve efeito significativo da idade do parasitóide ($F= 4,7$; $p= 0,008029$) com ajuste a uma equação linear (Tabela 3), indicando aparecimento de machos com o avanço da idade das fêmeas de *T. diatraeae*.

A longevidade de machos de *T. diatraeae* provenientes de quatro idades de fêmeas do parasitóide ($F= 1,5925$; $p= 0,193802$) e do hospedeiro ($F= 0,6338$; $p= 0,594373$) foram semelhantes isoladamente ou na interação ($F= 0,0929$; $p= 0,999707$), variando de 7,90 à 12,10 dias (Tabela 2). A longevidade de fêmeas foi semelhante quando isolado o efeito da idade do hospedeiro, *A. gemmatalis* ($F= 2,324$; $p= 0,075051$) e na interação ($F= 1,237$; $p= 0,271444$) (Tabela 2), porém houve efeito quando se avaliou a idade do parasitóide isoladamente ($F= 4,850$; $p= 0,002601$) com redução linear na longevidade de fêmeas (Tabela 3).

A largura da cápsula cefálica de machos, efeito idade do parasitóide ($F= 0,571$; $p= 0,634831$), efeito idade do hospedeiro ($F= 0,344$; $p= 0,793897$) e interação ($F= 0,210$; $p= 0,992695$) e de fêmeas, efeito idade do parasitóide ($F= 0,093$; $p= 0,963710$), efeito idade do hospedeiro ($F= 0,527$; $p= 0,664267$) e interação ($F= 0,321$; $p= 0,967854$) foram semelhantes entre tratamentos, com variações de 0,52 à 0,57 mm para machos e de 0,69 à 0,74 mm para fêmeas (Tabela 2).

Discussão

O parasitismo semelhante entre tratamentos mostra que *T. diatraeae* não reconhece hospedeiros mais velhos assim como relatado para *Meteorus gyrator* (Thun.) (Hymenoptera: Braconidae) e *Diadegma mollipla* (Holmgren) (Hymenoptera: Ichneumonidae) (Bell & Weaver 2008, Nofemela & Kfir 2008) e, também, não detecta características físicas e químicas do hospedeiro como relatado para *Trichogramma pretiosum* Riley e para *Trichogramma acacioi* Brun, Moraes & Soares (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) (Pratissoli *et al* 2005).

A redução na emergência de descendentes de *T. diatraeae* com o aumento da idade de suas fêmeas pode ser atribuído à diminuição da capacidade de parasitismo e do número de ovos em função do envelhecimento (Uçkan & Güllü 2002, Jacas *et al* 2005) ou ao aumento da mortalidade dos parasitóides em estágios avançados dos hospedeiros, comparado a estágios mais jovens. Além disso, em alguns casos, hospedeiros mortos podem conter larvas do parasitóide sugerindo que não houve tempo do parasitóide completar o ciclo (Monnerat *et al* 2002, Wang & Liu 2002, Amalin *et al* 2005, Henry *et al* 2005, Nofemela & Kfir 2008).

A obtenção de descendentes de *T. diatraeae* com até 96 horas de idade desse parasitóide em pupas do hospedeiro alternativo *A. gemmatilis* com até essa idade, em tubos de vidro e sem chance de escolha, indica que *T. diatraeae* pode utilizar os recursos desse hospedeiro corroborando Paron & Berti Filho (2000). Isso concorda com o relatado para *Melittobia acasta* (Walker) (Hymenoptera: Eulophidae) (Imandeh 2006) e é importante para a criação massal, pois esse parasitóide pode ser usado com até 96 horas de idade sem reduzir suas características reprodutivas. Assim, pupas do hospedeiro podem ser coletadas em períodos programados com até 96 horas de intervalo, otimizando a mão-de-obra sem interferir na biologia de *T. diatraeae*. O fato de não intervir na biologia de parasitóides é importante característica para um hospedeiro alternativo (Kivan & Kilic 2004, Chong & Oetting 2007, Fávero 2009, Pereira *et al* 2009b).

O número de indivíduos emergidos de *T. diatraeae* não se alterou após a escassez de hospedeiros em resposta à imprevisibilidade de encontros com hospedeiros viáveis como relatado para *Oomyzus sokolowskii* Kurdjumov (Hymenoptera: Eulophidae) e *Anagyrus kamali* Moursi (Hymenoptera: Encyrtidae) em larvas de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) e larvas e adultos de *Maconellicoccus hirsutus* Green (Hemiptera: Pseudococcidae), respectivamente (Sagarra & Vincent 1999, Silva-Torres *et al* 2009). Além disso, a densidade dos parasitóides foi suficiente para ovipositar um número de ovos que compensasse a baixa qualidade do hospedeiro, como relatado para *Anagyrus* sp. nov. nr. *sinope* Noyes & Menezes (Hymenoptera: Encyrtidae) em *Phenacoccus madeirensis* Green (Hemiptera: Pseudococcidae) (Chong & Oetting 2007). O hospedeiro pode suportar número limitado de descendentes

(Cooperband *et al* 2003) e esse limite foi alcançado em função da densidade de parasitóides que reduziram a capacidade defensiva de *A. gemmatalis* (Andrade *et al* 2010).

A variabilidade da razão sexual de *T. diatraeae* com a idade de suas fêmeas ocorreu pois progênie e razão sexual de parasitóides variam com o hospedeiro e idade do parasitóide e hospedeiro (Uçkan & Güllel 2002, Nofemela & Kfir 2008, Pastori *et al* 2010), com o tamanho do hospedeiro (Zaviezo & Mills 2000) e com o ajuste que esses fazem no número de ovos depositados em seus hospedeiros e razão sexual de seus descendentes (Godfray 1994). Além disso, descendentes do parasitóide podem ajustar a absorção de nutrientes com a disponibilidade dos recursos do hospedeiro (Häckermann *et al* 2007), mas os mecanismos de ajuste utilizados por fêmeas e imaturos de *T. diatraeae* ainda não foram desvendados.

O fato da idade de pupas de *A. gemmatalis* não afetar a duração do ciclo de vida de *T. diatraeae* indica que pupas desse hospedeiro podem não apresentar resposta imune diferencial contra imaturos de parasitóides, pois esse mecanismo de defesa (taxa de encapsulação e produção de toxinas) tem alto custo metabólico (Schmidt *et al* 2001, Schmid-Hempel 2005). Esse resultado difere do que foi observado em pupas de *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) com 24 horas, quando parasitadas por *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) pois houve aumento na duração do ciclo de vida desse parasitóide (Pereira *et al* 2009a).

Fêmeas e machos de *T. diatraeae* em pupas de *A. gemmatalis* apresentaram largura da cápsula cefálica semelhante ao observado quando criados em pupas de *D. sacharalis* (Grance 2010) e à outras espécies do gênero *Trichospilus* (Ubaidillah 2006) com longevidade satisfatória para sua utilização em programas de controle biológico (Fávero 2009, Grance 2010). O período de sobrevivência da progênie é importante para permitir que o parasitóide encontre seus hospedeiros (Roitberg *et al* 2001, Harvey *et al* 2004) e, no campo, sua escassez pode estimular o parasitóide a continuar procurando hospedeiros por maior tempo, controlando a ovulação ou reabsorvendo ovos e aumentando sua longevidade (Silva-Torres *et al* 2009). Fêmeas de *Trichogramma platneri* Nagarkatti (Hymenoptera: Trichogrammatidae) alocam mais recursos para a sobrevivência visando aumentar o tempo de busca em situações de escassez do hospedeiro (Hohmann & Luck 2004).

Pupas do hospedeiro alternativo *A. gemmatalis* com até 96 horas não afetaram o desenvolvimento de *T. diatraeae*, mas isso pode diferir entre espécies e/ ou populações de parasitóides e hospedeiros devido à métodos experimentais ou biologia das espécies (Wang *et al* 1999). As fêmeas de *T. diatraeae* com até 24 horas já estão aptas à parasitar, mas o aumento da idade dessas fêmeas altera a emergência, duração do ciclo, número de descendentes, razão sexual e longevidade de fêmeas. A idade de maior atividade e fecundidade de parasitóides é importante para se decidir o momento adequado para estudos

de comportamento (Kivan & Kilic 2004; Silva-Torres *et al* 2009) e otimizar a previsão de liberação em campo visando obter níveis significativos de parasitismo (Sagarra & Vincent 1999). Por exemplo, *Ceratogramma etiennei* Delvare (Hymenoptera: Trichogrammatidae) deve ser utilizado com um a dois dias após a emergência (Amalin *et al* 2005) e *P. elaeisis* com três a quatro dias (Pereira *et al* 2009a). No entanto, fêmeas de *T. diatraeae* reduzem sua fecundidade e reprodução com o avanço de sua idade.

Conclusões

Trichospilus diatraeae com até 96 horas de idade se reproduz satisfatoriamente em pupas do hospedeiro alternativo *A. gemmatalis* com idade de até 96 horas, embora o aumento da idade das fêmeas de *T. diatraeae* promova redução de alguns parâmetros.

Fêmeas de *T. diatraeae* com até 24 horas estão aptas para realizar o parasitismo.

Agradecimentos

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

Referências

- Amalin DM, Peña JE, Duncan RE (2005) Effects of host age, female parasitoid age, and host plant on parasitism of *Ceratogramma etiennei* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Fla Entomol* 88: 77-82.
- Andrade GS, Serrão JE, Zanuncio JC, Zanuncio TV, Leite GLD, Polanczyk RA (2010) Immunity of an alternative host can be overcome by higher densities of its parasitoids *Palmistichus elaeisis* and *Trichospilus diatraeae*. *PLoS ONE* 5: e13231.
- Bell HA, Weaver RJ (2008) Ability to host regulate determines host choice and reproductive success in the gregarious ectoparasitoid *Eulophus pennicornis* (Hymenoptera: Eulophidae). *Physiol Entomol* 33: 62-72.
- Bouček Z (1976) The African and Asiatic species of *Trichospilus* and *Cotterellia* (Hymenoptera, Eulophidae). *Bull Entomol Res* 65: 669-681.
- Chong JH, Oetting RD (2007) Functional response and progeny production of the Madeira mealybug parasitoid, *Anagyrus* sp. nov. nr. *sinope*: The effect of host stage preference. *Biol Control* 41: 78-85.
- Cooperband MF, Matthews RW, Vinson SB (2003) Factors affecting the reproductive biology of *Melittobia digitata* and failure to meet the sex ratio predictions of Hamilton's local mate competition theory. *Entomol Exp Appl* 109: 1-12.
- Fávero K (2009) Biologia e técnicas de criação de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) e *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 63p.
- Godfray HCJ (1994) Parasitoids: Behavioral and evolutionary ecology. Princeton University Press, Princeton, 488p.
- Grance, ELV (2010) Potencial de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 53p.
- Greene GL, Leppla NC, Dickerson WA (1976) Velvetbean caterpillar: A rearing procedure and artificial diet. *J Econ Entomol* 69: 487-488.
- Häckermann J, Rott AS, Dorn S (2007) How two different host species influence the performance of a gregarious parasitoid: Host size is not equal to host quality. *J Anim Ecol* 76: 376-383.
- Harvey JA, Strand MR (2002) The developmental strategies of endoparasitoid wasps vary with host feeding ecology. *Ecology* 83: 2439-2451.
- Harvey JA, Bezemer TM, Elzinga JA, Strand MR (2004) Development of the endoparasitoid *Microplitis demolitor*: Host quality does not increase with host age and size. *Ecol Entomol*

29: 35-43.

- Henry LM, Gillespie DR, Roitberg BD (2005) Does mother really know best? Oviposition preference reduces reproductive performance in the generalist parasitoid *Aphidius ervi*. Entomol Exp Appl 116: 167-174.
- Hohmann CL, Luck R (2004) Effect of host availability and egg load in *Trichogramma platneri* Nagarkatti (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and its consequences on progeny quality. Braz Arch Biol Technol 47: 413-422.
- Imandeh NG (2006) Effect of the pupal age of *Calliphora erythrocephala* (Diptera: Calliphoridae) on the reproductive biology of *Melittobia acasta* (Walker) (Hymenoptera: Chalcidoidea: Eulophidae). Entomol Sci 9: 7-11.
- Jacas JA, Peña JE, Duncan RE (2005) Successful oviposition and reproductive biology of *Aprostocetus vaquitarum* (Hymenoptera: Eulophidae): A predator of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae). Biol Control 33: 352-359.
- Kivan M & Kilic N (2004) Influence of host species and age on host preference of *Trissolcus semistriatus*. BioControl 49: 553-562.
- Lin LA, Ives AR (2003) The effect of parasitoid host-size preference on host population growth rates: an example of *Aphidius colemani* and *Aphis glycines*. Ecol Entomol 28: 542-550.
- Monnerat RG, Kirk AA, Bordat ED (2002) Biology of *Diadegma* sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae), a parasitoid of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae), from Reunion Island. Neotrop Entomol 31: 271-274.
- Nofemela RS, Kfir R (2008) *Diadegma mollipla* parasitizing *Plutella xylostella*: host instar preference and suitability. Entomol Exp Appl 126: 9-17.
- Paron MR (1999) Bioecologia de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Magabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), endoparasitóide de pupas de Lepidoptera. Tese de Doutorado, ESALQ/USP, Piracicaba, 57p.
- Paron MR, Berti Filho E (2000) Capacidade reprodutiva de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de diferentes hospedeiros (Lepidoptera). Sci Agric 57: 355-358.
- Pastori PL, Monteiro LB, Botton M, Pratisoli D (2010) Efeito da idade do parasitóide e do hospedeiro na reprodução de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Bonagota salubricola* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae). Arq Inst Biol 77: 349-353.
- Pereira FF, Zanuncio JC, Tavares MT, Pastori PL, Jacques GC, Vilela EF (2008) New record of *Trichospilus diatraeae* as a parasitoid of the eucalypt defoliator *Thyrintea arnobia* in Brazil. Phytoparasitica 36: 304-306.
- Pereira FF, Zanuncio JC, Serrão JE, Oliveira HN, Fávero K, Grance ELV (2009a) Progenie de

- Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) parasitando pupas de *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) de diferentes idades. Neotrop Entomol 38: 660-664.
- Pereira FF, Zanuncio JC, Serrão JE, Pastori PL, Ramalho FS (2009b) Reproductive performance of *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) with previously refrigerated pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). Braz J Biol 69: 865-869.
- Pratissoli D, Zanuncio JC, Vianna UR, Andrade JS, Zanotti LCM, Silva AF (2005) Biological characteristics of *Trichogramma pretiosum* and *Trichogramma acacioi* (Hym.: Trichogrammatidae), parasitoids of the avocado defoliator *Nipteria panacea* (Lep.: Geometridae), on eggs of *Anagasta kuehniella* (Lep.: Pyralidae). Braz Arch Biol Technol 48: 7-13.
- Rodrigues MAT (2010) Exigências térmicas e hídricas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 52p.
- Roitberg BD, Boivin G, Vet LEM (2001) Fitness, parasitoids, and biological control: an opinion. Can Entomol 133: 429-438.
- Sagarra LA, Vincent C (1999) Influence of host stage on oviposition, development, sex ratio, and survival of *Anagyrus kamali* Moursi (Hymenoptera: Encyrtidae), a parasitoid of the hibiscus mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* Green (Homoptera: Pseudococcidae). Biol Control 15: 51-56.
- Schmid-Hempel P (2005) Evolutionary ecology of insect immune defenses. Annu Rev Entomol 50: 529-551.
- Schmidt O, Theopold V, Strand MR (2001) Innate immunity and its evasion and suppression by Hymenoptera endoparasitoid. Bioessays 234: 344-351.
- Silva-Torres CSA, Barros R, Torres JB (2009) Efeito da idade, fotoperíodo e disponibilidade de hospedeiro no comportamento de parasitismo de *Oomyzus sokolowskii* Kurdjumov (Hymenoptera: Eulophidae). Neotrop Entomol 38: 512-519.
- Ubaidillah R (2006) Eulophine parasitoids of the genus *Trichospilus* in Indonesia, with the description of two new species (Hymenoptera: Eulophidae). Entomol Sci 9: 217-222.
- Uçkan F, Gülel A (2002) Age-related fecundity and sex ratio variation in *Apanteles galleriae* (Hym., Braconidae) and host effect on fecundity and sex ratio of its hyperparasitoid *Dibrachys boarmiae* (Hym., Pteromalidae). J Appl Ent 126: 534-537.
- Zaché B, Wilcken CF, Dacosta RR, Soliman EP (2010) *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), a new parasitoid of *Melanolophia consimilaria* (Lepidoptera: Geometridae). Phytoparasitica 38: 355-357.
- Zaviezo T, Mills N (2000) Factors influencing the evolution of clutch size in a gregarious insect

- parasitoid. J Anim Ecol 69: 1047-1057.
- Wang X-G, Liu S-S, Guo S-J, Lin W-C (1999) Effects of host stages and temperature on population parameters of *Oomyzus sokolowskii*, a larval-pupal parasitoid of *Plutella xylostella*. BioControl 44: 391-402.
- Wang X-G, Liu S-S (2002) Effects of host age on the performance of *Diadromus collaris*, a pupal parasitoid of *Plutella xylostella*. BioControl 47: 293-307.

Tabela 1. Emergência (%), número de descendentes, duração do ciclo (dias) e razão sexual (número) de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) com quatro idades, emergidos de pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) com quatro períodos de desenvolvimento. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 70 ± 10 % de umidade relativa e 14 horas de fotofase

Idade de <i>T. diatraeae</i> (h)	Idade de pupas de <i>A. gemmatalis</i> (h)			
	0-24	24-48	48-72	72-96
Emergência (% $\pm$ erro padrão) ^{ns}				
0-24	75,00 $\pm$ 0,00	83,33 $\pm$ 8,33	58,33 $\pm$ 8,33	58,33 $\pm$ 8,33
24-48	100,0 $\pm$ 0,00	75,00 $\pm$ 14,43	91,67 $\pm$ 8,33	83,33 $\pm$ 8,33
48-72	100,0 $\pm$ 0,00	83,33 $\pm$ 16,67	100,00 $\pm$ 0,00	50,00 $\pm$ 14,43
72-96	91,67 $\pm$ 8,33	75,00 $\pm$ 14,43	91,67 $\pm$ 8,33	50,00 $\pm$ 14,43
Número de descendentes (médias $\pm$ erro padrão) ^{ns}				
0-24	175,00 $\pm$ 20,52	214,08 $\pm$ 20,79	113,92 $\pm$ 18,32	97,75 $\pm$ 30,01
24-48	211,83 $\pm$ 35,96	194,75 $\pm$ 35,49	171,17 $\pm$ 18,72	133,08 $\pm$ 42,53
48-72	182,75 $\pm$ 17,01	142,83 $\pm$ 40,18	178,42 $\pm$ 08,48	124,83 $\pm$ 33,63
72-96	197,70 $\pm$ 20,14	195,58 $\pm$ 53,16	189,50 $\pm$ 23,62	130,92 $\pm$ 35,39
Duração do ciclo (dias $\pm$ erro padrão) ^{ns}				
0-24	16,44 $\pm$ 0,40	17,92 $\pm$ 0,43	17,17 $\pm$ 0,63	16,11 $\pm$ 0,59
24-48	16,50 $\pm$ 0,14	17,72 $\pm$ 0,15	17,64 $\pm$ 0,70	16,44 $\pm$ 0,80
48-72	16,67 $\pm$ 0,22	19,17 $\pm$ 0,17	16,75 $\pm$ 0,25	16,56 $\pm$ 0,29
72-96	16,81 $\pm$ 0,10	17,69 $\pm$ 0,19	16,75 $\pm$ 0,38	16,50 $\pm$ 0,50
Razão sexual (médias $\pm$ erro padrão) ^{ns}				
0-24	0,97 $\pm$ 0,00	0,97 $\pm$ 0,00	0,96 $\pm$ 0,00	0,95 $\pm$ 0,01
24-48	0,96 $\pm$ 0,01	0,97 $\pm$ 0,00	0,96 $\pm$ 0,00	0,95 $\pm$ 0,01
48-72	0,97 $\pm$ 0,00	0,99 $\pm$ 0,00	0,96 $\pm$ 0,00	0,96 $\pm$ 0,02
72-96	0,98 $\pm$ 0,00	0,99 $\pm$ 0,00	0,97 $\pm$ 0,00	0,95 $\pm$ 0,03

^{ns} Não significativo pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 2. Longevidade e largura da cápsula cefálica de machos e de fêmeas de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) com quatro idades, emergidos de pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) com quatro períodos de desenvolvimento. 25 ± 2°C, 70 ± 10 % de umidade relativa e 14 horas de fotofase

Idade de <i>T. diatraeae</i> (h)	Idade de pupas de <i>A. gemmatalis</i> (h)			
	0-24	24-48	48-72	72-96
Longevidade de machos (dias ± erro padrão) ^{ns}				
0-24	10,40 ± 1,56	11,40 ± 1,40	9,70 ± 1,81	7,90 ± 2,11
24-48	11,40 ± 1,88	12,10 ± 1,81	11,00 ± 1,50	9,00 ± 2,33
48-72	10,00 ± 1,22	9,50 ± 1,29	9,80 ± 1,10	8,00 ± 1,07
72-96	10,00 ± 1,96	10,40 ± 2,44	9,50 ± 1,50	8,90 ± 0,50
Longevidade de fêmeas (dias ± erro padrão) ^{ns}				
0-24	14,95 ± 0,96	14,75 ± 1,05	13,00 ± 0,94	10,90 ± 1,44
24-48	13,85 ± 1,10	13,70 ± 0,99	13,80 ± 0,99	9,50 ± 1,09
48-72	11,65 ± 1,04	11,75 ± 1,15	12,75 ± 1,22	12,05 ± 0,93
72-96	11,65 ± 0,75	11,80 ± 0,79	12,45 ± 0,90	10,55 ± 0,86
Cápsula cefálica de machos (mm) (médias ± erro padrão) ^{ns}				
0-24	0,54 ± 0,02	0,53 ± 0,03	0,54 ± 0,02	0,54 ± 0,02
24-48	0,52 ± 0,02	0,57 ± 0,02	0,56 ± 0,02	0,54 ± 0,03
48-72	0,54 ± 0,03	0,55 ± 0,02	0,55 ± 0,03	0,53 ± 0,02
72-96	0,52 ± 0,03	0,55 ± 0,02	0,53 ± 0,02	0,53 ± 0,03
Cápsula cefálica de fêmeas (mm) (médias ± erro padrão) ^{ns}				
0-24	0,72 ± 0,04	0,74 ± 0,04	0,74 ± 0,04	0,74 ± 0,03
24-48	0,73 ± 0,04	0,69 ± 0,04	0,74 ± 0,04	0,73 ± 0,03
48-72	0,72 ± 0,03	0,73 ± 0,03	0,69 ± 0,03	0,70 ± 0,03
72-96	0,71 ± 0,03	0,69 ± 0,03	0,73 ± 0,04	0,69 ± 0,03

^{ns}Não significativo pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 3. Modelos matemáticos usados para descrever o efeito de quatro idades (0-24; 24-48; 48-72 e 72-96 horas) de fêmeas de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) com até 96 horas de idade. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e 14 horas de fotofase

Parâmetro biológico	Modelo matemático	R^2	F	P
Emergência (%)	$\hat{y} = 101,0421 - 8,7502 * x$	0,3445	7,3591	= 0,0168
Número de descendentes	$\hat{y} = 224,4049 - 23,4090 * x$	0,5444	16,7307	= 0,0011
Duração do ciclo (dias)	$\hat{y} = 14,726 + 2,575x - 0,548 * x^2$	0,5757	8,8191	= 0,0038
Razão sexual	$\hat{y} = 0,9810 - 0,0064 * x$	0,3920	9,0253	= 0,0095
Longevidade de fêmeas (dias)	$\hat{y} = 14,1500 - 0,0284 * x$	0,2713	5,2111	= 0,0386

CAPÍTULO III

Temperatura e Tempo de Refrigeração de Pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) Reduzem a Reprodução de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae)?

Temperatura e Tempo de Refrigeração de Pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) Reduzem a Reprodução de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae)?

RESUMO - O desenvolvimento de parasitóides em hospedeiros conservados em baixa temperatura, sem perda da qualidade, é importante para criações massais e, por isso, a reprodução de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) foi avaliada em pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) após armazenadas a zero ou 5°C. No experimento um, pupas de *A. gemmatalis*, com até 24 horas de idade, foram armazenadas a zero, cinco ou 25°C (testemunha) por um, três, seis, nove ou 12 dias e, expostas ao parasitismo por 10 fêmeas de *T. diatraeae* por 24 horas. No experimento dois, pupas de *A. gemmatalis*, com até 24 horas de idade foram expostas ao parasitismo por 10 fêmeas de *T. diatraeae* por 24 horas e, posteriormente mantidas à 25°C até o parasitóide atingir o estágio de pupa, quando foram armazenados a zero, cinco ou 25°C (testemunha) por um, três, seis, nove ou 12 dias. No experimento um, o parasitismo de *T. diatraeae* em pupas armazenadas de *A. gemmatalis* foi superior à 90%, exceto à 25°C por 12 dias. A emergência, o número de indivíduos e a longevidade dos descendentes machos e fêmeas da geração F1 reduziram com o armazenamento (zero ou 5°C). No experimento dois, o armazenamento de parasitóides à 5°C por um dia aumentou a emergência, não alterou o período de duração do ciclo de vida com o número de indivíduos semelhante à testemunha. A razão sexual e a largura da cápsula cefálica de machos e de fêmeas de *T. diatraeae* foram semelhantes à testemunha nos experimentos. Armazenar a frio (zero ou 5°C) pupas de *A. gemmatalis* não parasitadas ou contendo o estágio imaturo (pupa) do parasitóide no seu interior, por mais de um dia, afeta negativamente a reprodução de *T. diatraeae*.

PALAVRAS-CHAVE: Parasitóides, criação massal, armazenamento, baixa temperatura, hospedeiro alternativo.

Temperature and refrigeration time of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) pupae reduce reproduction of *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae)?

ABSTRACT - Development of parasitoids in hosts kept at low temperatures, without loss of quality, is important for mass rearing. Accordingly, reproduction of *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) was evaluated on *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) pupae after being stored at zero or 5°C. In experiment 1, *A. gemmatalis* pupae with up to 24 hours of age, were stored at zero, five or

25°C (control) for one, three, six, nine or 12 days and exposed to parasitism for 10 females of *T. diatraeae* for 24 hours. In experiment 2, *A. gemmatalis* pupae, at up to 24 hours of age were exposed to parasitism by 10 females of *T. diatraeae* for 24 hours and after they were kept at 25°C until the parasitoid reach pupae stage, when they were stored at zero, five or 25°C (control) for one, three, six, nine or 12 days. In experiment 1, parasitism of *T. diatraeae* on stored pupae of *A. gemmatalis* was greater than 90%, except at 25°C for 12 days. Emergency, progeny, and longevity of males descendants and females from F1 generation were reduced with storage (zero or 5°C). In the experiment 2, storage of parasitoids at 5°C for one day increased emergency, not changed period of length of life cycle with progeny similar to the control. Sex ratio and width of cephalic capsule of males and females of *T. diatraeae* were similar to control in the experiments. Cold storage (zero or 5°C) of *A. gemmatalis* pupae unparasitized or with immature stage (pupae) of parasitoid in it, for more than one day, negatively affects reproduction of *T. diatraeae*.

Key Words: Parasitoids, mass rearing, storage, low temperature, alternative host.

O endoparasitóide pupal, *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae), se desenvolve, principalmente, em Lepidoptera (Paron & Berti Filho 2000, Pereira *et al* 2008, Andrade *et al* 2010) das famílias Crambidae (Cherian & Margabandhu 1942), Arctiidae (Paron & Berti Filho 2000), Oecophoridae (Oliveira *et al* 2001), Pyralidae (Kazmi & Chauhan 2003) e Geometridae (Pereira *et al* 2008, Zaché *et al* 2010) e tem potencial para o controle biológico em culturas de importância como cana-de-açúcar, milho e algodão na África, Ásia e Américas (Bouček 1976, Fávero 2009, Grance 2010, Rodrigues 2010).

A criação de parasitóides em larga escala é fundamental para a implantação de programas de controle biológico. No entanto, a falta de dietas artificiais adequadas para parasitóides torna necessário o uso de hospedeiros preferenciais ou alternativos (Milward-de-Azevedo *et al* 2004). *A. gemmatalis* é um hospedeiro alternativo para *T. diatraeae* (Paron & Berti Filho 2000), tem baixo custo (Otuka *et al* 2006), fácil obtenção e pode ser criada com dieta artificial (Greene *et al* 1976).

A possibilidade de conservação de hospedeiros em baixas temperaturas, sem perda da capacidade reprodutiva dos parasitóides é importante para aumentar a produção dos mesmos visando liberações inundativas durante a ocorrência de determinada praga (Floate 2002, Pratisoli *et al* 2003, Milward-de-Azevedo *et al* 2004, Bayram *et al* 2005, López & Botto 2005, Carvalho *et al* 2008) ou para responder às flutuações na demanda por parasitóides (Correa-Ferreira & Moscardi 1993, Chen & Leopold 2007, Geden & Kaufman 2007, Bernardo *et al* 2008, Carvalho *et al* 2008) e fornecer insetos para pesquisas (Bayram *et al* 2005, López & Botto 2005, Carvalho *et al* 2008). Desta forma, a preservação do hospedeiro em estado adequado é

importante para a criação massal de inimigos naturais (Correa-Ferreira & Moscardi 1993, Bayram *et al* 2005, Kivan & Kilic 2005, Bernardo *et al* 2008, Häckermann *et al* 2008).

O armazenamento a frio de hospedeiros e inimigos naturais depende da temperatura e da duração da exposição a esse fator (Lysyk 2004). Exceder os limites de tolerância para o armazenamento a frio pode comprometer a qualidade de um hospedeiro (Rundle *et al* 2004, Bayram *et al* 2005, López & Botto 2005, Chen *et al* 2008b). Assim, parâmetros biológicos e reprodutivos como parasitismo, emergência, longevidade, fecundidade, número de indivíduos e capacidade de dispersão são utilizados para avaliar a performance do parasitóide após o armazenamento a frio (Leopold 1998). Portanto, o armazenamento a frio de parasitóides é desejável para programas de controle biológico, mas é de difícil implementação.

A aplicação prática do armazenamento a frio de inimigos naturais é ainda limitada por razões como a morte dos parasitóides adultos armazenados (Foerster & Doetzer 2006, Chen *et al* 2008a) ou intolerância às condições climáticas adversas (Foerster *et al* 2004), redução das taxas de emergência (López & Botto 2005, Pandey & Johnson 2005) ou parasitismo (López & Botto 2005, Luczynski *et al* 2007, Bernardo *et al* 2008) ou alteração da história de vida como a longevidade e razão sexual (Foerster *et al* 2004, Bayram *et al* 2005, Bernardo *et al* 2008).

As características naturais de insetos benéficos devem ser mantidas durante o processo de armazenamento para garantir a qualidade dos mesmos (van Lenteren & Tommasini 2003). Assim, o conhecimento dos limites de armazenamento a frio para *T. diatraeae* permitirá a elaboração de um protocolo para recomendação de armazenamento de pupas de *A. gemmatalis* ou desse parasitóide no interior desse hospedeiro.

O objetivo do estudo foi investigar o desempenho de *T. diatraeae* em pupas do hospedeiro alternativo, *A. gemmatalis* armazenadas a zero ou 5°C. Especificamente estudou-se a reprodução do parasitóide quando as pupas foram armazenadas e oferecidas ao parasitismo (1) e a influência do armazenamento das pupas com o parasitóide em seu interior no estágio de pupa (2).

Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LCBI) do Instituto de Biotecnologia Aplicada a Agricultura (BIOAGRO) da Universidade Federal de Viçosa (UFV) em Viçosa, Minas Gerais com as etapas:

Criação de *A. gemmatalis*. Lagartas de *A. gemmatalis* foram criadas em potes plásticos (1.000 mL) com tampa furada e vedada com organza para aumentar a aeração e alimentadas com dieta artificial proposta por Greene *et al* (1976) à $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 14 horas. Os adultos foram mantidos em gaiolas de madeira (33 x 33 x 33 cm) com as laterais teladas e fechada com tampa de vidro. Esses adultos foram alimentados com

solução nutritiva embebida em algodão (Greene *et al* 1976). As posturas dessas mariposas foram coletadas em folhas de papel branco dispostas no interior das gaiolas, recortadas e colocadas nos potes de criação com a dieta artificial para continuidade da criação em laboratório.

Criação de *T. diatraeae*. Os adultos de *T. diatraeae* da criação do LCBI foram mantidos em tubos de vidro (14,0 x 2,2 cm), fechados com algodão e alimentados com gotículas de mel puro. Cada pupa de *A. gemmatalis* foi oferecida às fêmeas de *T. diatraeae* recém-emergidas por 24 horas e, após esse período, individualizadas e mantidas à $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa (Rodrigues 2010) e fotofase de 14 horas até a emergência dos adultos (Pereira *et al* 2008).

Desenvolvimento experimental. No primeiro experimento (armazenamento de pupas não parasitadas), pupas de *A. gemmatalis*, com até 24 horas de idade, foram pesadas ($202,73 \pm 5,67$ mg) e armazenadas à zero, cinco ou 25°C (testemunha) por um, três, seis, nove ou 12 dias. Após o período de armazenamento, cada pupa foi exposta ao parasitismo por 10 fêmeas recém-emergidas de *T. diatraeae* em tubos de vidro (14,0 x 2,2 cm) por um período de 24 horas à $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 14 horas. Os tubos continham uma gota de mel para alimentação dos parasitóides e foram fechados com algodão. Ao final do período de exposição ao parasitismo, as fêmeas de *T. diatraeae* foram retiradas dos tubos e as pupas mantidas à $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 14 horas até a emergência dos descendentes de *T. diatraeae*. No segundo experimento (armazenamento de pupas parasitadas), pupas de *A. gemmatalis*, com até 24 horas de idade foram pesadas ($200,8 \pm 1,91$ mg) e expostas individualmente ao parasitismo por 10 fêmeas recém-emergidas de *T. diatraeae* em tubos de vidro (14,0 x 2,2 cm) por 24 horas a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 14 horas. Os tubos continham uma gota de mel para alimentação dos parasitóides e foram fechados com algodão. Ao final do período de exposição ao parasitismo, as fêmeas de *T. diatraeae* foram retiradas dos tubos e as pupas parasitadas mantidas à $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 14 horas até os parasitóides atingirem o estágio de pupa, quando foram armazenados a zero, cinco ou 25°C (testemunha) por um, três, seis, nove ou 12 dias, adaptado de Carvalho *et al* (2008). Para verificar o estágio de pupa do parasitóide, uma amostra, além do número de repetições, foi separada, aberta com auxílio de estilete e comparada ao relatado por Paron (1999). O número de fêmeas do parasitóide foi determinado em testes preliminares em função do peso das pupas hospedeiras.

Parâmetros avaliados. Foram avaliados a porcentagem de parasitismo (experimento um); a duração do ciclo de vida (ovo-adulto) à 25°C (experimentos um e dois); a porcentagem de emergência (experimentos um e dois); o número de parasitóides emergidos por pupa de *A. gemmatalis* (experimentos um e dois); a longevidade dos descendentes (experimentos um e

dois), a razão sexual (RS= número de fêmeas/ número de adultos) (experimentos um e dois) e a largura da cápsula cefálica de machos e de fêmeas (experimentos um e dois). O sexo de *T. diatraeae* foi determinado pelas características morfológicas de suas antenas e abdome (Paron 1999).

Os dois experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições, constituídas por quatro pupas de *A. gemmatalis* e 10 e 20 repetições constituídas por 10 machos e 20 fêmeas, escolhidos(as) ao acaso nos descendentes de cada tratamento para longevidade e largura da cápsula cefálica de machos e de fêmeas, respectivamente (experimentos um e dois). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) (experimentos um e dois) e os modelos escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão utilizando o teste “t” de Student adotando o nível de 5% de probabilidade, no coeficiente de determinação ($R^2 = \text{SQReg} / \text{SQTotal}$) e no fenômeno biológico estudado (experimento um) e ao teste de Dunnett ($p \leq 0,05$) (experimento dois).

Resultados

Experimento I

O parasitismo de *T. diatraeae* foi de 99,00% em pupas de *A. gemmatalis* armazenadas à zero, 96,00% à cinco e 95,00% à 25°C independente do período de armazenamento. Em pupas de *A. gemmatalis* armazenadas à 25°C por 12 dias houve emergência de adultos desse lepidóptero.

O percentual de emergência de *T. diatraeae* diminuiu com o aumento do período de armazenamento de pupas de *A. gemmatalis* independentemente da temperatura (Fig. 1ABC). Em pupas de *A. gemmatalis* armazenadas à 0°C por 12 dias não houve emergência de *T. diatraeae* (Fig. 1A).

A duração do ciclo de vida de *T. diatraeae* variou de 17,40 à 19,80 dias sem diferença entre os períodos de armazenamento nas três temperaturas (Tabela 1).

O número de descendentes de *T. diatraeae*, por pupa de *A. gemmatalis*, foi menor com o período de armazenamento nas temperaturas zero e 5°C (Fig. 2AB) e na testemunha (25°C) (Fig. 2C).

Houve redução da longevidade dos descendentes machos e fêmeas de *T. diatraeae* à zero (Fig. 3A e 4A) e à 5°C (Fig. 3B e 4B) e também na testemunha (25°C) (Fig. 3C e 4C).

A razão sexual e a largura da cápsula cefálica de machos e de fêmeas de *T. diatraeae* foram semelhantes entre os períodos de armazenamento nas três temperaturas, com médias de 0,97 a 0,99, 0,52 a 0,57 mm e de 0,77 a 0,83 mm, respectivamente (Tabela 1).

Experimento II

O percentual de emergência de *T. diatraeae* foi menor que na testemunha em pupas

de *A. gemmatalis* mantidas à 5°C por seis e nove dias e à 0°C por três dias e superior à 5°C por um dia (Tabela 2). Descendentes desse parasitóide morreram à 0°C por seis, nove e 12 dias e à 5°C por 12 dias (Tabela 2). O percentual de emergência de *T. diatraeae* de pupas armazenadas à 0°C por um dia e 5°C por três dias foi semelhante ao da testemunha (Tabela 2).

A temperatura não afetou a duração do ciclo de vida de *T. diatraeae*, excluindo o período de armazenamento, sendo as médias semelhantes à da testemunha (Tabela 2).

O número de descendentes de *T. diatraeae* foi semelhante à da testemunha quando as pupas de *A. gemmatalis*, com o parasitóide no estágio imaturo (pupa), foram armazenadas à 5°C por um dia, e inferiores nos demais tratamentos (Tabela 2).

A longevidade de descendentes machos de *T. diatraeae* foi menor que na testemunha quando *T. diatraeae*, em estágio imaturo nas pupas de *A. gemmatalis*, foi armazenado por três dias à zero e à 5°C por três e seis dias. A longevidade de descendentes fêmeas desse parasitóide foi inferior à testemunha em todos os tratamentos (Tabela 2).

A razão sexual e a cápsula cefálica de machos e de fêmeas de *T. diatraeae* foram semelhantes nas temperaturas e períodos de armazenamento com médias de 0,97 a 1,00, 0,50 a 0,56 mm e de 0,76 a 0,80 mm, respectivamente (Tabela 2).

Discussão

O parasitismo de *T. diatraeae* em pupas de *A. gemmatalis* armazenadas (zero ou 5°C) foi superior à 95%, corroborando os percentuais encontrados por Paron & Berti Filho (2000) em pupas não armazenadas. À 25°C por 12 dias, o período pupal se completou e houve emergência de adultos de *A. gemmatalis*. No entanto, houve efeito negativo da temperatura de armazenamento, no percentual de emergência e no número de parasitóides emergidos quando pupas de *A. gemmatalis* foram armazenadas a frio (zero ou 5°C) e oferecidas ao parasitóide. O maior tempo de armazenamento a frio pode: (1) alterar a cor e/ou promover o escurecimento do hospedeiro devido à melanização, causando declínio nas taxas de parasitismo e emergência (López & Botto 2005, Chen & Leopold 2007); (2) injuriar as células das pupas, o que compromete a sequência de reações metabólicas e conseqüentemente, sua qualidade nutricional (Rundle *et al* 2004, Milward-de-Azevedo *et al* 2004, Chen & Leopold 2007, Pereira *et al* 2009); (3) promover dessecação do hospedeiro contribuindo para a redução na reprodução do parasitóide (Correa-Ferreira & Moscardi 1993); além de (4) permitir a deterioração devido à patógenos (Kanga *et al* 2004), danos estruturais, mecânicos ou alguma combinação desses fatores (Chen & Leopold 2007). Assim, erros no processo de armazenamento a frio podem afetar negativamente os parasitóides reduzindo o seu impacto nas populações de pragas (Pilkington & Hoddle 2006). Ovos de *Homalodisca coagulata* (Say) (Hemiptera: Cicadellidae) morreram quando armazenados por cinco dias à 2°C, mas

permanecem adequados para *Gonatocerus ashmeadi* Girault (Hymenoptera: Mymaridae) por, até 30 dias, se armazenados à 10°C (Chen & Leopold 2007). *Trissolcus basalis* (Wollaston) (Hymenoptera: Scelionidae) não emergiram de ovos de *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae) armazenados à 8°C por mais de 120 dias, no entanto, quando armazenados à -15°C, a emergência foi reduzida (Correa-Ferreira & Moscardi 1993). *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) apresentou índices adequados de parasitismo e emergência de pupas de *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae), após armazenamento a 10°C por até 20 dias (Pereira *et al* 2009). No entanto houve baixa relação entre a porcentagem de emergência de *Trichomalopsis sarcophagae* Gahan (Hymenoptera: Pteromalidae) e *Hyssopus pallidus* (Askew) (Hymenoptera: Eulophidae) e o número de semanas de armazenamento a frio de pupas de *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) e larvas de *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) e *Cydia molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae), respectivamente (Lysyk 2004, Häckermann *et al* 2008). A conservação de hospedeiros em baixas temperaturas constitui uma estratégia para disponibilizar o hospedeiro para programas de produção de parasitóides (Leopold *et al* 1998, Floate 2002, Pratissoli *et al* 2003, Milward-de-Azevedo *et al* 2004, Pereira *et al* 2009) ou de liberação inoculativa (Ayvaz *et al* 2008), porém determinar o binômio (temperatura x tempo de armazenamento) é fundamental para estabelecer protocolos para armazenamento e evitar que o frio afete a fecundidade (Bayram *et al* 2005, Pandey & Johnson 2005, Chen & Leopold 2007).

A menor emergência de *T. diatraeae* pode estar relacionada à injúria por frio durante o desenvolvimento do estágio imaturo do parasitóide no hospedeiro (Chen *et al* 2008b). O armazenamento prolongado reduz a emergência do parasitóide devido aos efeitos nos órgãos reprodutivos pela nutrição insuficiente e respiração (Tezze & Botto 2004, Foerster & Doetzer 2006) ou, indiretamente, na sobrevivência do hospedeiro (Lysyk 2004) ou ainda, pela alteração da dureza e espessura das estruturas do hospedeiro, bem como, mudanças no teor de água do hospedeiro armazenado (Kivan & Kilic 2005).

A semelhante duração do ciclo de vida de *T. diatraeae* em pupas de *A. gemmatilis* armazenadas pode estar relacionada à manutenção da qualidade nutricional das pupas, uma vez que essas mantêm as condições fisiológicas e/ ou nutricionais adequadas por determinado período de armazenamento em função da espécie (Pereira *et al* 2009). O armazenamento deve manter a qualidade dos hospedeiros à um custo reduzido e com equipamentos disponíveis (Lysyk 2004, Kivan & Kilic 2005, Geden & Kaufman 2007).

O menor número de indivíduos de *T. diatraeae* nos dois experimentos indica impacto negativo pelo aumento do período de armazenamento como relatado para *P. elaeisis* em pupas de *B. mori* armazenadas a 10°C (Pereira *et al* 2009) e *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae), quando o hospedeiro, lagartas de *Diatraea saccharalis* (Fabr.)

(Lepidoptera: Crambidae) foi mantido à 2,75°C por seis e nove dias (Carvalho *et al* 2008). A atividade metabólica da pupa depende do material nutritivo acumulado no seu corpo durante a fase larval (Bernardo *et al* 2008) e períodos prolongados de armazenamento a frio podem reduzir os nutrientes para o desenvolvimento do parasitóide (Foerster & Doetzer 2006). A exposição prolongada a baixas temperaturas pode matar parasitóides gregários em desenvolvimento da borda da pupa para o seu interior e reduzir o número de parasitóides emergidos por pupa do hospedeiro (Rivers *et al* 2000). Por outro lado, a morte de parasitóides solitários com um único adulto por pupa parasitada é maior por não haver o “efeito borda” (Lysyk 2004). A baixa temperatura é uma das condições de estresse que um inseto pode encontrar e, mesmo com características adaptativas para melhorar sua sobrevivência, fisiologistas e geneticistas procuram um mecanismo universal para a resistência a múltiplas formas de estresse. Hipóteses baseadas em estudos de laboratório incluem: (1) baixar a taxa metabólica, que conserva os recursos e minimiza a exposição ao estresse, (2) acumular reservas de energia metabólica (gordura corporal) que promove resistência múltipla ao estresse e, (3) produzir proteínas de choque térmico, para atuar na proteção e reestruturação/renaturação da proteína celular (Bubliy & Loeschcke 2005).

A menor longevidade de descendentes machos e fêmeas de *T. diatraeae* com o armazenamento a frio de pupas de *A. gemmatalis* corrobora resultados da geração F1 de *G. ashmeadi* com menor longevidade e queda da fecundidade quando ovos do hospedeiro *H. coagulata* foram armazenados à 10°C por 70 dias (Chen & Leopold 2007). A sobrevivência é um importante indicador da aptidão de insetos armazenados (Bernardo *et al* 2008) e a redução desse parâmetro para *T. diatraeae* pelo armazenamento de pupas ou quando o parasitóide foi armazenado, indica sua susceptibilidade ao armazenamento a frio. O armazenamento em temperaturas muito abaixo da “ótima” produz adultos com menor reserva corporal e, conseqüentemente, menor longevidade (Bernardo *et al* 2008) como relatado para *Trichogramma nerudai* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (Tezze & Botto 2004). No entanto, a baixa temperatura não afetou a longevidade dos descendentes dos parasitóides *P. elaeisis*, *G. ashmeadi*, *Thripobius javae* (= *T. semiluteus*) (Hymenoptera: Eulophidae) e *C. flavipes* (Chen & Leopold 2007, Bernardo *et al* 2008, Carvalho *et al* 2008, Pereira *et al* 2009).

A maior mortalidade de *T. diatraeae* no interior das pupas de *A. gemmatalis* após exposição a 0°C comparado à 5°C indica que lesões de refrigeração diretas podem ter ocorrido à 0°C, enquanto *G. ashmeadi* teve maior mortalidade após exposição a 10°C, indicativo de lesões indiretas (Chen *et al* 2008a). A refrigeração causa lesões diretas e indiretas, sendo a direta caracterizada por ferimento ou choque frio por período curto a temperatura baixa (Morris *et al* 1983) e a indireta pela exposição prolongada à temperaturas moderadamente baixas, mas geralmente acima de 0°C (Lee 1991).

A semelhante largura da cápsula cefálica e da razão sexual (superior à 0,95, nos dois experimentos) de *T. diatraeae*, indicam que o armazenamento de pupas ou desse parasitóide na fase de pupa dentro do hospedeiro alternativo, *A. gemmatalis*, não afetaram esses parâmetros indicando que a largura da capsula cefálica e razão sexual podem ser uma característica dessa espécie (Fávero 2009, Grance 2010, Rodrigues 2010). Assim, houve emergência de maior número de fêmeas, importante em sistemas de criação massal, experimentos de laboratório e seleção de indivíduos para liberação no campo (Uçkan & Gulel 2002, Amalin *et al* 2005, Pereira *et al* 2009) com tamanho adequado (Ubaidillah 2006, Grance 2010). As progênies de *T. diatraeae* com alta proporção de fêmeas indicam que não houve mortalidade diferencial devido ao armazenamento a frio (López & Botto 2005) como relatado para a progênie F1 de *Telenomus busseolae* Gahan (Hymenoptera: Scelionidae) armazenado a frio como adulto (Bayram *et al* 2005) e para *C. flavipes*, *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae), *Trissolcus basalis*, *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae) e *P. elaeisis* quando os hospedeiros foram mantidos à 2,75, 4, 8 ou -15, 15 ou 18 e 10°C, respectivamente (Correa-Ferreira & Moscardi 1993, Foerster & Doetzer 2006, Ayvaz *et al* 2008, Carvalho *et al* 2008, Pereira *et al* 2009).

A redução dos principais parâmetros biológicos de *T. diatraeae* ocorreu pelo fato das temperaturas estarem abaixo da temperatura base no hospedeiro alternativo, *A. gemmatalis* (Capítulo 1) e sugere susceptibilidade desse parasitóide ao armazenamento a frio nas condições desse estudo. Temperaturas abaixo do limiar térmico inferior de desenvolvimento causam efeitos negativos no desenvolvimento de parasitóides (Lysyk 2004, Bayram *et al* 2005). Condições adequadas para o armazenamento a frio de parasitóides variam com as técnicas utilizadas e com o potencial biótico de cada espécie (López & Botto 2005). Isto deve ser melhor estudados pois as espécies não têm o mesmo potencial para serem armazenadas a frio antes da sua utilização no controle biológico.

Conclusões

A emergência, o número de indivíduos e a longevidade dos descendentes de *T. diatraeae* reduzem em pupas de *A. gemmatalis* após armazenamento dessas a frio (zero ou 5°C).

O armazenamento a frio (5°C) por curto período (24 horas) de pupas parasitadas, não afeta a reprodução de *T. diatraeae* e pode ser uma alternativa para viabilizar a embalagem para transporte.

O armazenamento a frio (zero ou 5°C) de *T. diatraeae* na fase de pupa dentro do hospedeiro alternativo, *A. gemmatalis* por mais de 24 horas não é recomendado para preservar os parâmetros biológicos desse parasitóide.

Agradecimentos

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

Referências

- Amalin DM, Pena JE, Duncan RE (2005) Effects of host age, female parasitoid age, and host plant on parasitism of *Ceratogramma etiennei* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Fla Entomol* 88: 77-82.
- Andrade GS, Serrão JE, Zanuncio JC, Zanuncio TV, Leite GLD, Polanczyk RA (2010) Immunity of an alternative host can be overcome by higher densities of its parasitoids *Palmistichus elaeisis* and *Trichospilus diatraeae*. *PLoS ONE* 5: e13231.
- Ayvaz A, Karasu E, Karabörklü S, Tunçbilek AS (2008) Effects of cold storage, rearing temperature, parasitoid age and irradiation on the performance of *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *J Stored Prod Res* 44: 232-240.
- Bayram A, Özcan H, Kornosor S (2005) Effect of cold storage on the performance of *Telenomus busseolae* Gahan (Hymenoptera: Scelionidae), an egg parasitoid of *Sesamia nonagrioides* (Lefebvre) (Lepidoptera: Noctuidae). *Biol Control* 35: 68-77.
- Bernardo U, Iodice L, Sasso R, Pedata PA (2008) Effects of cold storage on *Thripobius javae* (= *T. semiluteus*) (Hymenoptera: Eulophidae). *Biocontrol Sci Techn* 18: 921-933.
- Bouček Z (1976) The African and Asiatic species of *Trichospilus* and *Cotterellia* (Hymenoptera: Eulophidae). *Bull Entomol Res* 65: 669-681.
- Bubliy OA, Loeschcke V (2005) Variation of life-history and morphometrical traits in *Drosophila buzzatii* and *Drosophila simulans* collected along an altitudinal gradient from a Canary island. *Biol J Linn Soc* 84: 119-136.
- Carvalho JS, Vacari AM, De Bortoli SA, Viel SR (2008) Efeito do armazenamento de pupas de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) em baixa temperatura. *Bol San Veg Plagas* 34: 21-26.
- Chen W-L, Leopold RA (2007) Progeny quality of *Gonatocerus ashmeadi* (Hymenoptera: Mymaridae) reared on stored eggs of *Homalodisca coagulata* (Hemiptera: Cicadellidae). *J Econ Entomol* 100: 685-694.
- Chen W-L, Leopold RA, Boetel MA (2008a) Cold storage of adult *Gonatocerus ashmeadi* (Hymenoptera: Mymaridae) and effects on maternal and progeny fitness. *J Econ Entomol* 101: 1760-1770.
- Chen W-L, Leopold RA, Harris MO (2008b) Cold storage effects on maternal and progeny quality of *Gonatocerus ashmeadi* Girault (Hymenoptera: Mymaridae). *Biol Control* 46: 122-132.
- Cherian MC, Margabandhu V (1942) A new species of *Trichospilus* (Hymenoptera: Chalcidoidea) from South India. *Indian J Entomol* 4: 101-102.

- Correa-Ferreira BS, Moscardi F (1993) Técnicas de armazenamento de ovos do percevejo-verde visando à multiplicação do parasitóide *Trissolcus basal* (Wollaston). Pesq Agropec Bras 28: 1247-1253.
- Fávero K (2009) Biologia e técnicas de criação de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) e *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 63p.
- Floate KD (2002) Production of filth fly parasitoids (Hymenoptera: Pteromalidae) on fresh and on freeze-killed and stored house fly pupae. Biocontrol Sci Techn 12: 595-603.
- Foerster LA, Doetzer AK, Castro LCF (2004) Emergence, longevity and fecundity of *Trissolcus basal* and *Telenomus podisi* after cold storage in the pupal stage. Pesq Agropec Bras 39: 841-845.
- Foerster LA, Doetzer AK (2006) Cold storage of the egg parasitoids *Trissolcus basal* (Wollaston) and *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae). Biol Control 36: 232-237.
- Geden CJ, Kaufman PE (2007) Development of *Spalangia cameroni* and *Muscidifurax raptor* (Hymenoptera: Pteromalidae) on live house fly (Diptera: Muscidae) pupae and pupae killed by heat shock, irradiation, and cold. Environ Entomol 36: 34-39.
- Grance, ELV (2010) Potencial de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 53p.
- Greene GL, Leppla NC, Dickerson WA (1976) Velvetbean caterpillar: A rearing procedure and artificial diet. J Econ Entomol 69: 487-488.
- Häckermann J, Rott AS, Tschudi-Rein K, Dorn S (2008) Cold stored ectoparasitoid of *Cydia* fruit moths released under different temperature regimes. BioControl 53: 857-867.
- Kanga LHB, Jones WA, Humber RA, Boyd Jr DW (2004) Fungus pathogens of the glassy-winged sharpshooter *Homalodisca coagulata* (Homoptera: Cicadellidae). Fla Entomol 87: 225-228.
- Kazmi SI, Chauhan N (2003) Chalcidoid parasitoids (Hymenoptera: Chalcidoidea) of *Hypsipyla robusta* (Lepidoptera: Pyralidae), a pest of cedars and mahogany. Orient Insects 37: 261-275.
- Kivan M, Kilic N (2005) Effects of storage at low-temperature of various heteropteran host eggs on the egg parasitoid, *Trissolcus semistriatus*. BioControl 50: 589-600.
- Lee RE (1991) Principles of insect low temperature tolerance, p. 17-46. In Lee RD [ed.], Insects at low temperature. Chapman & Hall, New York.

- Leopold RA (1998) Cold storage of insects for integrated pest management. p. 235-267. In Hallman GJ, Denlinger DL (eds.) Temperature sensitivity in insects and application in integrated pest management. Westview Press, Boulder, 314p.
- Leopold RA, Rojas RR, Atkinson PW (1998) Post pupariation cold storage of three species of flies: increasing chilling tolerance by acclimation and recurrent recovery periods. *Cryobiology* 36: 213-224.
- López SN, Botto E (2005) Effect of cold storage on some biological parameters of *Eretmocerus corni* and *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Biol Control* 33: 123-130.
- Luczynski A, Nyrop JP, Shi A (2007) Influence of cold storage on pupal development and mortality during storage and on post-storage performance of *Encarsia formosa* and *Eretmocerus eremicus* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Biol Control* 40: 107-117.
- Lysyk TJ (2004) Effects of cold storage on development and survival of three species of parasitoids (Hymenoptera: Pteromalidae) of house fly, *Musca domestica* L. *Environ Entomol* 33: 823-831.
- Milward-de-Azevedo EMV, Serafin I, Piranda EM, Gulas-Gomes CC (2004) Desempenho reprodutivo de *Nasonia vitripennis* Walker (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas criopreservadas de *Chrysomia megacephala* Fabricius (Diptera: Calliphoridae): avaliação preliminar. *Cienc Rural* 34: 207-211.
- Morris GJ, Coulson G, Meyer MA, McLellan MR, Fuller BJ, Grout BWW, Pritchard HW, Knight SC (1983) Cold shock-a widespread cellular reaction. *Cryoletters* 4: 179-192.
- Oliveira MAS, Junqueira NTV, Icuma IM, Alves RT, Oliveira JNS, Andrade GA (2001) Incidência de danos da broca do fruto da graviola no Distrito Federal. Planaltina: Embrapa-CPAC, p.1-5 (Comunicado Técnico n. 51)
- Otuka AK, Vacari AM, Martins MIEG, De Bortoli SA (2006) Custo de produção de *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae) criado com diferentes presas. *O Biológico* 68: 224-227.
- Pandey RR, Johnson MW (2005) Effects of cold storage on *Anagyrus ananatis* Gahan (Hymenoptera: Encyrtidae). *Biol Control* 35: 9-16.
- Paron MR (1999) Bioecologia de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Magabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), endoparasitóide de pupas de Lepidoptera. Tese de Doutorado, ESALQ/USP, Piracicaba, 57p.
- Paron MR, Berti Filho E (2000) Capacidade reprodutiva de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de diferentes hospedeiros (Lepidoptera). *Sci Agric* 57: 355-358.

- Pereira FF, Zanuncio JC, Tavares MT, Pastori PL, Jacques GC, Vilela EF (2008) New record of *Trichospilus diatraeae* as a parasitoid of the eucalypt defoliator *Thyrintea arnobia* in Brazil. *Phytoparasitica* 36: 304-306.
- Pereira FF, Zanuncio JC, Serrão JE, Pastori PL, Ramalho FS (2009) Reproductive performance of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) with previously refrigerated pupae of *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). *Braz J Biol* 69: 865-869.
- Pilkington LJ, Hoddle MS (2006) Reproductive and development biology of *Gonatocerus ashmeadi* (Hymenoptera: Mymaridae), an egg parasitoid of *Homalodisca coagulata* (Hemiptera: Cicadellidae). *Biol Control* 37: 266-275.
- Pratissoli D, Vianna UR, Oliveira HN, Pereira FF (2003) Efeito do armazenamento de ovos de *Anagasta kuehniella* (Lep.: Pyralidae) nas características biológicas de três espécies de *Trichogramma* (Hym.: Trichogrammatidae). *Ceres* 50: 95-105.
- Rivers DB, Lee Jr RC, Denlinger DL (2000) Cold hardiness of the fly pupal parasitoid *Nasonia vitripennis* is enhanced by its host *Sarcophaga crassipalpis*. *J Insect Physiol* 46: 99-106.
- Rodrigues MAT (2010) Exigências térmicas e hídricas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 52p.
- Rundle BJ, Thomson LJ, Hoffmann AA (2004) Effects of cold storage on field and laboratory performance of *Trichogramma carverae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and the response of three *Trichogramma* spp. (*T. carverae*, *T. nr. brassicae*, and *T. funiculatum*) to cold. *J Econ Entomol* 97: 213-221.
- Tezze AA, Botto EN (2004) Effect of cold storage on the quality of *Trichogramma nerudai* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Biol Control* 30: 11-16.
- Ubaidillah R (2006) Eulophine parasitoids of the genus *Trichospilus* in Indonesia, with the description of two new species (Hymenoptera: Eulophidae). *Entomol Sci* 9: 217-222.
- Uçkan F, Gülel A (2002) 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* 126: 534-537.
- van Lenteren JC, Tommasini MG (2003) Mass production, storage, shipment and release of natural enemies. p. 181-189. In: van Lenteren JC (ed.) *Quality control and production of biological control agents: Theory and Testing Procedures*. CABI Publishing, Wallingford, 352p.
- Zaché B, Wilcken CF, Dacosta RR, Soliman EP (2010) *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), a new parasitoid of *Melanolophia consimilaria* (Lepidoptera: Geometridae). *Phytoparasitica* 38: 355-357.

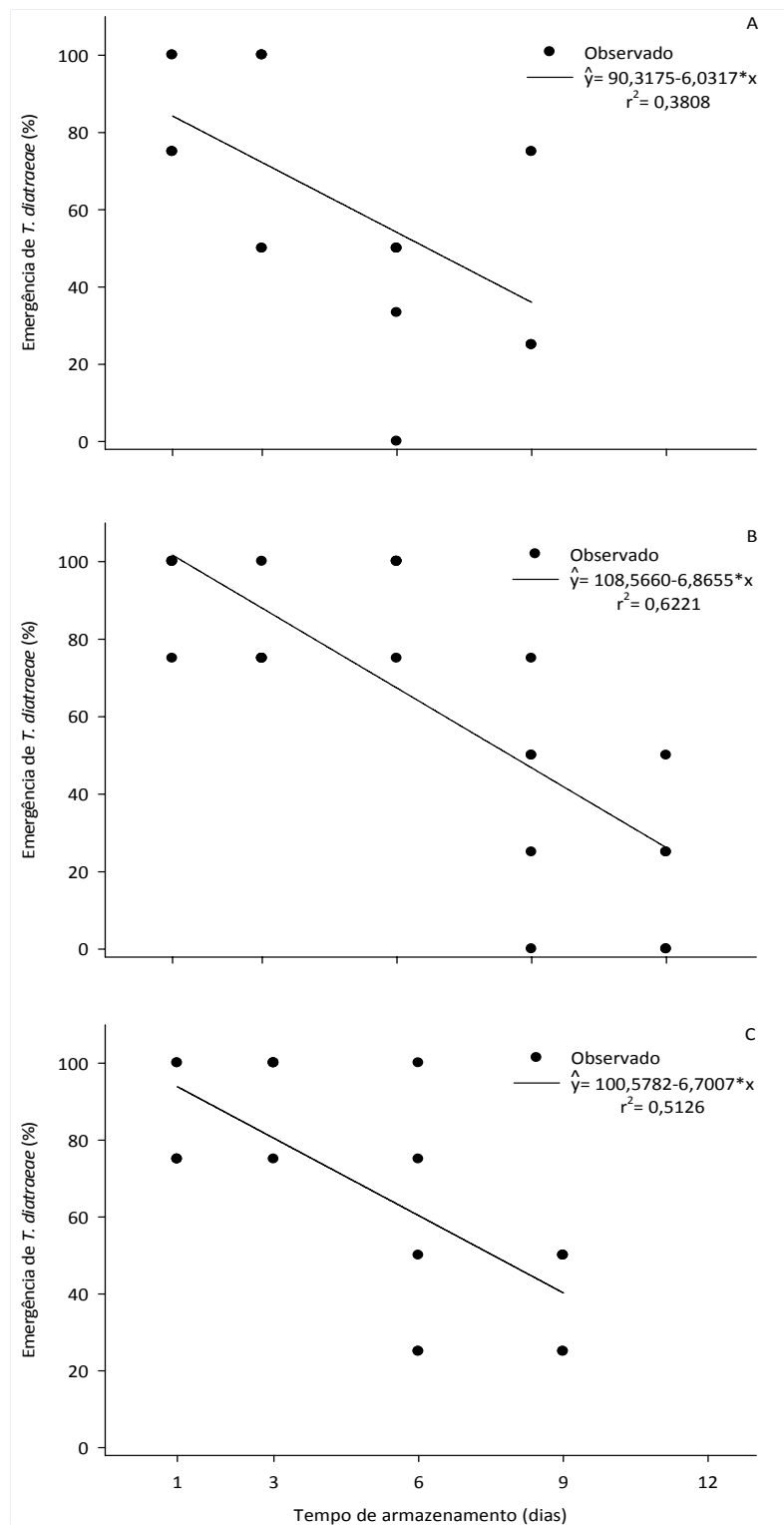


Figura 1. Emergência (%) de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) após armazenamento à zero (A), cinco (B) ou 25°C (C) por cinco períodos. $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e 14 horas de fotofase.

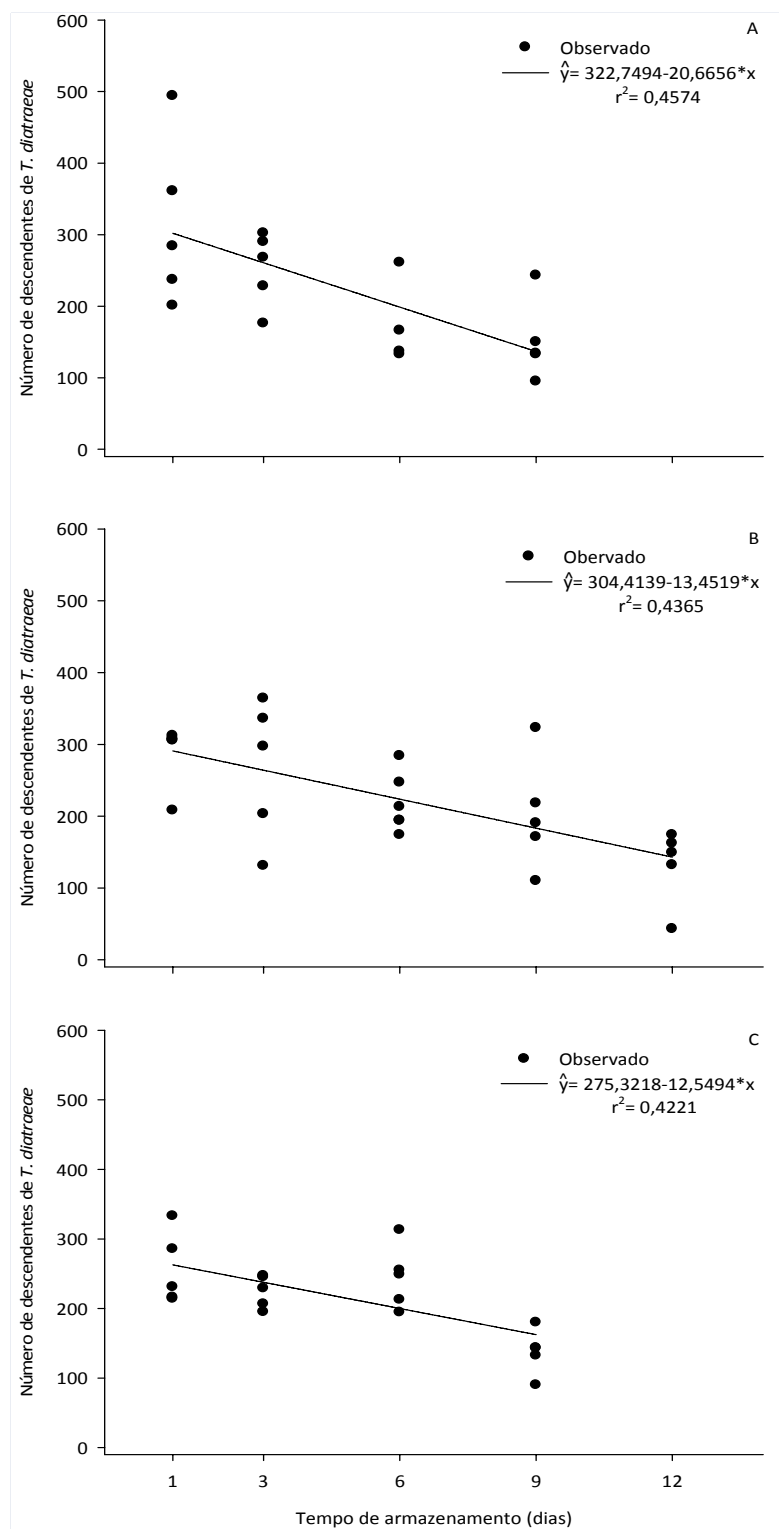


Figura 2. Número de descendentes de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) após armazenamento à zero (A), cinco (B) ou 25°C (C) por cinco períodos. 70 ± 10% de umidade relativa e 14 horas de fotofase.

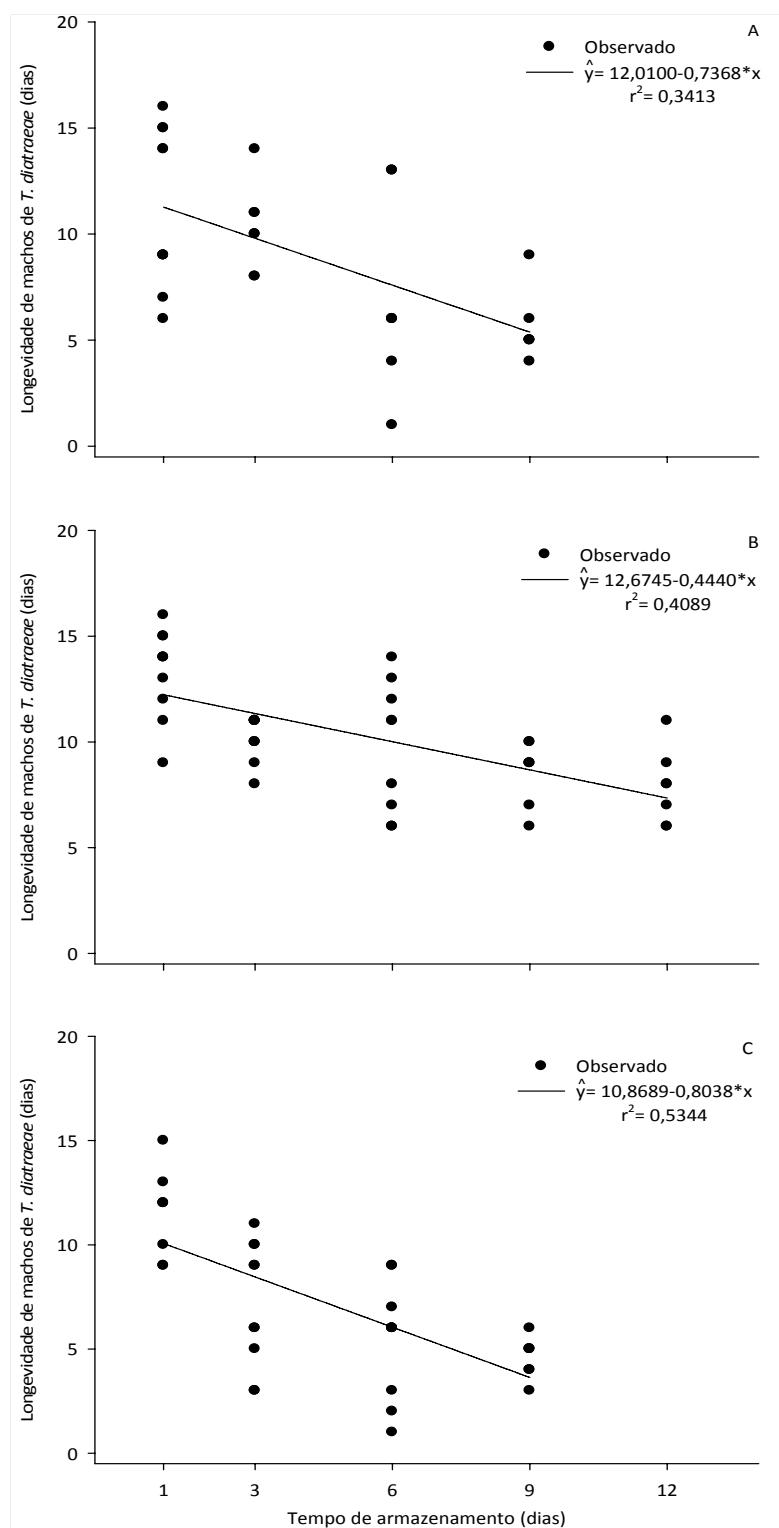


Figura 3. Longevidade de descendentes machos de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) após armazenamento à zero (A), cinco (B) ou 25°C (C) por cinco períodos. 70 ± 10% de umidade relativa e 14 horas de fotofase.

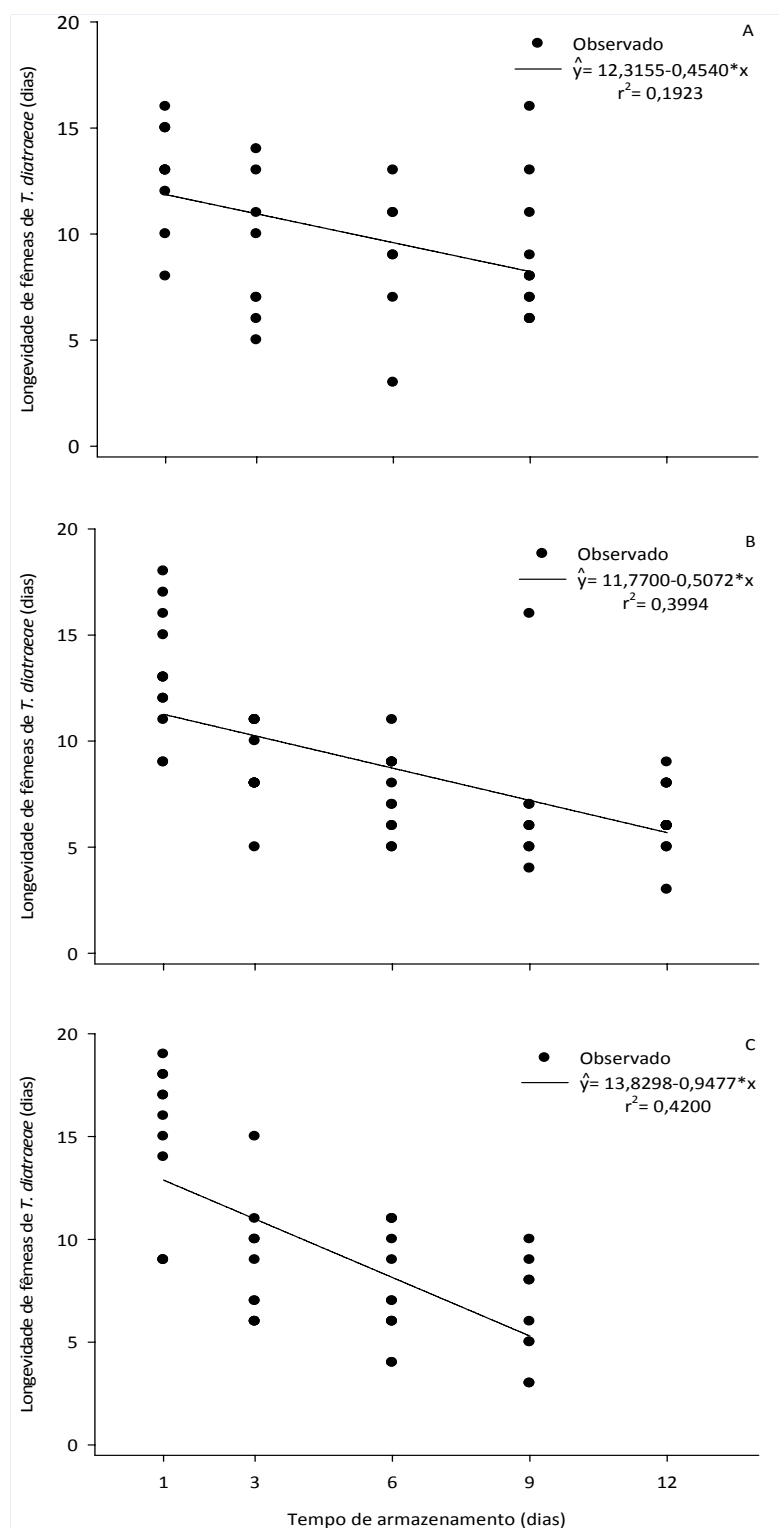


Figura 4. Longevidade de descendentes fêmeas de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Anticarsia gemmatilis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) após armazenamento à zero (A), cinco (B) ou 25°C (C) por cinco períodos. 70 ± 10% de umidade relativa e 14 horas de fotofase.

Tabela 1. Duração do ciclo de vida, razão sexual e largura da cápsula cefálica de machos e fêmeas de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) após armazenamento em três temperaturas por cinco períodos. 70 ± 10% de umidade relativa e 14 horas de fotofase

Armazenamento (dias)	Temperatura de armazenamento (°C)		
	0	5	25
Duração do ciclo (dias ± erro padrão) ^{ns}			
1	18,60 ± 0,24	18,50 ± 0,16	18,60 ± 0,40
3	18,20 ± 0,49	17,85 ± 0,35	17,40 ± 0,24
6	19,80 ± 0,97	18,10 ± 0,75	17,60 ± 0,24
9	19,40 ± 0,68	18,10 ± 0,33	18,80 ± 0,80
12	-	18,50 ± 0,39	-
Razão sexual (médias ± erro padrão) ^{ns}			
1	0,99 ± 0,00	0,99 ± 0,00	0,99 ± 0,00
3	0,97 ± 0,01	0,98 ± 0,01	0,98 ± 0,01
6	0,98 ± 0,01	0,99 ± 0,00	0,98 ± 0,00
9	0,98 ± 0,00	0,99 ± 0,01	0,98 ± 0,01
12	-	0,98 ± 0,00	-
Cápsula cefálica de machos (mm) (médias ± erro padrão) ^{ns}			
1	0,57 ± 0,02	0,54 ± 0,02	0,52 ± 0,03
3	0,57 ± 0,03	0,53 ± 0,02	0,52 ± 0,02
6	0,56 ± 0,03	0,54 ± 0,02	0,53 ± 0,02
9	0,55 ± 0,02	0,52 ± 0,02	0,53 ± 0,03
12	-	0,52 ± 0,03	-
Cápsula cefálica de fêmeas (mm) (médias ± erro padrão) ^{ns}			
1	0,79 ± 0,02	0,83 ± 0,02	0,78 ± 0,02
3	0,81 ± 0,02	0,81 ± 0,01	0,78 ± 0,02
6	0,78 ± 0,02	0,80 ± 0,02	0,80 ± 0,01
9	0,82 ± 0,02	0,77 ± 0,02	0,78 ± 0,02
12	-	0,77 ± 0,02	-

^{ns}Não significativo pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade;
 - Não houve emergência de *T. diatraeae*.

Tabela 2. Emergência (%), duração do ciclo de vida (descontado o tempo de armazenamento), número de indivíduos, razão sexual, longevidade e largura da cápsula cefálica de machos e fêmeas (médias $\pm$ Erro Padrão) de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) armazenado no estágio de pupa dentro de pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). 70 $\pm$ 10% de umidade relativa e 14 horas de fotofase

Tratamentos	Emergência (%)	Duração (dias)	Número de indivíduos	Razão Sexual ^{ns}	Longevidade machos (dias)	Longevidade fêmeas (dias)	Cápsula cefálica machos (mm) ^{ns}	Cápsula cefálica fêmeas (mm) ^{ns}
0°C por 1 dia	55,00 $\pm$ 9,35 nd	19,20 $\pm$ 1,01 nd	129,23 $\pm$ 35,06*	0,98 $\pm$ 0,00	4,10 $\pm$ 0,31 nd	6,40 $\pm$ 0,65*	0,52 $\pm$ 0,03	0,76 $\pm$ 0,02
0°C por 3 dias	35,00 $\pm$ 18,71*	14,65 $\pm$ 5,98 nd	37,60 $\pm$ 16,18*	0,97 $\pm$ 0,01	3,50 $\pm$ 0,58*	6,25 $\pm$ 0,75*	0,51 $\pm$ 0,02	0,78 $\pm$ 0,02
0°C por 6 dias	0,00 $\pm$ 0,00*	-	-	-	-	-	-	-
0°C por 9 dias	0,00 $\pm$ 0,00*	-	-	-	-	-	-	-
0°C por 12 dias	0,00 $\pm$ 0,00*	-	-	-	-	-	-	-
5°C por 1 dia	85,00 $\pm$ 10,00*	15,98 $\pm$ 0,15 nd	255,78 $\pm$ 18,71 nd	0,99 $\pm$ 0,00	5,30 $\pm$ 0,67 nd	6,00 $\pm$ 0,67*	0,53 $\pm$ 0,03	0,78 $\pm$ 0,02
5°C por 3 dias	65,00 $\pm$ 6,12 nd	19,37 $\pm$ 0,30 nd	44,13 $\pm$ 10,02*	0,97 $\pm$ 0,01	3,50 $\pm$ 0,48*	4,60 $\pm$ 0,43*	0,56 $\pm$ 0,03	0,79 $\pm$ 0,02
5°C por 6 dias	25,00 $\pm$ 7,91*	18,00 $\pm$ 4,51 nd	31,70 $\pm$ 10,66*	0,98 $\pm$ 0,01	3,00 $\pm$ 0,91*	6,20 $\pm$ 0,30*	0,50 $\pm$ 0,02	0,78 $\pm$ 0,02
5°C por 9 dias	10,00 $\pm$ 6,12*	10,20 $\pm$ 6,25 nd	12,00 $\pm$ 7,52*	1,00 $\pm$ 0,00	-	5,95 $\pm$ 0,47*	-	0,80 $\pm$ 0,02
5°C por 12 dias	0,00 $\pm$ 0,00*	-	-	-	-	-	-	-
25°C (Test.)	70,00 $\pm$ 9,35	17,45 $\pm$ 0,30	295,53 $\pm$ 18,41	0,99 $\pm$ 0,00	6,30 $\pm$ 1,02	11,53 $\pm$ 0,98	0,54 $\pm$ 0,03	0,77 $\pm$ 0,01

^{ns}Não significativo pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade;

ndMédias não diferem da testemunha (Dunnett, $p \leq 0,05\%$);

*Médias diferem da testemunha (Dunnett, $p \leq 0,05\%$);

- Não houve emergência de *T. diatraeae* e/ou dados.

CAPÍTULO IV

Dispersão de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) em
Função da Distância de Pupas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae)
em Cana-de-açúcar

**Dispersão de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) em
Função da Distância de Pupas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae)
em Cana-de-açúcar**

RESUMO - O sucesso de programas de controle biológico, com parasitóides, depende da avaliação do comportamento dos mesmos no campo. Por isso, a dispersão de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) foi estudada em cana-de-açúcar soca com sete meses de idade na região de Dourados, Mato Grosso do Sul. Foram demarcados dez “stands” com 452 m² cada e dentro destes, quatro círculos concêntricos com raios de três, seis, nove e 12 metros com quatro, oito, 12 e 16 pontos de coleta, respectivamente. Os pontos de coleta foram representados por armadilhas com uma pupa de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) no seu interior. Dois mil parasitóides (44.250 parasitóides/ha) foram liberados no ponto central, exceto na testemunha e as armadilhas recolhidas após 48 horas. Houve redução do parasitismo com o aumento da distância do ponto de liberação com média de 12,5% à três e de 2,5% à 12 metros. Espécimes Formicidae predaram 59,0% das pupas de *D. saccharalis* em todas as distâncias e 34,0% dessas pupas não foram encontradas por parasitóides ou predadores pois, houve emergência de adultos do lepidóptero. Os valores observados devem ser considerados aproximações preliminares da dispersão de *T. diatraeae* em cana-de-açúcar com sete meses de idade da soca devido à complexidade de fatores envolvidos nos experimentos de campo, mas fêmeas de *T. diatraeae* encontraram e parasitaram pupas de *D. saccharalis* até 12 metros do ponto de liberação.

PALAVRAS-CHAVE: Controle biológico, parasitóides, capacidade de vôo, broca-da-cana.

**Dispersal of *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) in
function of the distance of *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) pupae
in sugar cane**

ABSTRACT - The success of biological control programs, with parasitoids depends on the evaluation of the behavior of parasitoids in the field. Thus, dispersal of *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) was studied in ratoon sugar cane at seven months of age in Dourados, Mato Grosso do Sul State. Ten 452-m² stands were delimited and inside them four concentric circles with radius of three, six, nine and 12 meters with four, eight, 12 and 16 collect sites, respectively. Collect sites were represented by traps with one *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) pupae inside each of them. Two thousand parasitoids (44,250 parasitoids/ha) were released at the central point, except

control and traps collected after 48 hours. Parasitism was reduced as the distance of releasement site increased with means of 12.5% to three and 2.5 to 12 meters. Formicidae specimens preyed 59.0% of *D. saccharalis* pupae in all distances and 34.0% of these pupae were not found by parasitoids or predators because adult Lepidoptera emerged. The values observed should be considered preliminary approximations of the dispersal of *T. diatraeae* in sugar cane with seven months of ratoon because of the complexity of the factors involved in the field experiments. However, *T. diatraeae* females found and parasitized *D. saccharalis* pupae up to 12 meters from the releasement site.

Key Words: Biological control, parasitoids, flight capacity, sugar cane-borer.

Eulophidae apresenta 297 gêneros e 4.472 espécies, em regiões tropicais e temperadas, como endoparasitóides ou ectoparasitóides; idiobiontes ou coinobiontes; solitários ou gregários; primários ou hiperparasitóides; especialistas ou generalistas, e muitas dessas espécies têm sido estudadas e utilizadas em programas de controle biológico (Gauthier *et al* 2000; Noyes 2003). *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) é um pequeno endoparasitóide de pupas de Lepidoptera (Paron & Berti Filho 2000) registrado no Brasil (Pereira *et al* 2008, Zaché *et al* 2010) e apresenta potencial para o controle biológico de pragas agrícolas, em especial, *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar (Fávero 2009, Grance 2010, Rodrigues 2010). No entanto, o sucesso de programas de controle biológico depende da avaliação da capacidade de busca dos inimigos naturais por seus hospedeiros (Fournier & Boivin 2000, Pratissoli *et al* 2005a, Canto-Silva *et al* 2006, Soares *et al* 2007, Pereira *et al* 2010b) e pode ser influenciada pelo hospedeiro, condições climáticas, número de insetos liberados, densidade da praga, espécie e linhagem do parasitóide, época e número de liberações, método de distribuição e fenologia da planta (Fournier & Boivin 2000, Pratissoli *et al* 2003, 2005ab, Steinbauer *et al* 2006, Chapman *et al* 2009).

A dispersão de parasitóides tem sido avaliada pelo parasitismo em hospedeiros alternativos (Pratissoli *et al* 2005ab, Pereira *et al* 2010b) ou naturais (Pastori *et al* 2008, Grance 2010) ou ainda por marcação e recaptura (Turchin 1998) com cartões coloridos e adesivos (Canto-Silva *et al* 2006, Chapman *et al* 2009) dos espécimes liberados. No entanto, o método de marcação não é confiável para parasitóides pequenos (Hagler *et al* 2002) e, por isso, devem ser usados métodos com menor impacto no comportamento ou sobrevivência dos parasitóides (Canto-Silva *et al* 2006).

O objetivo desse estudo foi avaliar a dispersão de fêmeas de *T. diatraeae* em plantio comercial de cana-de-açúcar variedade RB835054 (segundo corte e sete meses de idade da soca) em função da distância de pupas de *D. saccharalis*.

O experimento foi conduzido no Laboratório de Entomologia da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados e em plantio comercial de cana-de-açúcar na Usina Dourados S/A - Açúcar e Álcool, Dourados, Mato Grosso do Sul.

Duas mil pupas de *D. saccharalis* foram fornecidas pela empresa BioSoluções (Dourados, MS) e parte delas, utilizadas para manutenção e multiplicação de *T. diatraeae* em câmaras climatizadas à $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e 14 horas de fotofase. Cada pupa foi colocada no interior de tubos de vidro (14,0 x 2,2 cm), com quatro fêmeas de *T. diatraeae* e gotículas de mel nas paredes internas para alimentação desse parasitóide. Os tubos foram tampados com algodão e após 48 horas, as fêmeas retiradas dos tubos e as pupas mantidas na câmara climatizada até a emergência da próxima geração dos parasitóides.

O experimento a campo foi realizado em plantio comercial de cana-de-açúcar variedade RB835054 (segundo corte e sete meses de idade da soca), onde foram marcados dez “stands” de 452 m². Quatro círculos concêntricos com raios de três, seis, nove e 12 metros foram demarcados dentro de cada “stand” (Fig. 1). O primeiro círculo, com raio de três metros em relação ao ponto central de liberação dos parasitóides, possuía quatro pontos de coleta, onde foram fixadas armadilhas confeccionadas com tela do tipo filó com uma pupa de *D. saccharalis* com 24 à 48 horas de idade. Oito, 12 e 16 pontos de coleta foram instalados por círculo (seis, nove e 12 metros) (Fig. 1), respectivamente, pelo aumento da área.

Fêmeas recém-emergidas de *T. diatraeae* foram liberadas no ponto central de cada “stand” na proporção de 50 parasitóides/pupa, totalizando 2.000 parasitóides (44.250 parasitóides/ha) (Grance 2010). Dezesesseis armadilhas confeccionadas com tela do tipo filó contendo uma pupa de *D. saccharalis* foram distribuídas no mesmo plantio de cana a 250 m de distância em relação aos “stands” para verificação do parasitismo natural (testemunha).

As armadilhas foram identificadas de acordo com a distância em relação ao ponto central, recolhidas 48 horas após a liberação dos parasitóides e levadas ao laboratório onde as pupas de *D. saccharalis* foram acondicionadas no interior de cápsulas plásticas (7,5 x 1,0 cm). As cápsulas plásticas foram fechadas com algodão e inseridas em câmaras climatizadas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e 14 horas de fotofase para a avaliação do parasitismo, predação ou emergência de adultos de *D. saccharalis*.

Tratos culturais ou aplicação de produtos fitossanitários não foram realizados durante os experimentos. A temperatura média foi $28,4^\circ\text{C}$ com máxima $37,0^\circ\text{C}$ e mínima $21,4^\circ\text{C}$; a umidade relativa média foi 74,3%, com máxima 99,0% e mínima 39,0%; não houve precipitação pluviométrica e ventos de $2,19 \pm 0,16$ m/s foram registrados. Os dados climáticos foram obtidos junto à Embrapa Agropecuária Oeste e Usina Dourados S/A - Açúcar e Álcool.

O experimento foi conduzido no delineamento experimental inteiramente casualizado com dez repetições representadas por cada “stand”. Os dados foram submetidos à análise de

variância (ANOVA) e o modelo escolhido baseado na significância dos coeficientes de regressão utilizando o teste “t” de Student adotando o nível de 5% de probabilidade, no coeficiente de determinação ($R^2 = \text{SQReg} / \text{SQTotal}$) e no fenômeno biológico estudado.

O parasitismo de *T. diatraeae* em pupas de *D. saccharalis* reduziu com o aumento da distância do ponto de liberação com variação de 12,5% à três e de 2,5% à 12 metros ($F = 13,7926$; $p = 0,0007$) e os dados ajustaram-se a uma equação linear ($\hat{y} = 17,500 - 1,667 \cdot x$) ($r^2 = 0,2663$).

A predação de pupas de *D. saccharalis* em todas as distâncias foi de 59,0%. Os predadores encontrados foram duas espécies de *Crematogaster* sp., uma de *Camponotus* sp., uma de *Azteca* sp. e espécimes das subfamílias Myrmicinae, Formicinae e Dolichoderinae.

Trinta e quatro por cento do total de pupas de *D. saccharalis*, em todas as distâncias (três, seis, nove e 12 metros), não foram encontradas por parasitóides ou predadores pois houve emergência de adultos desse lepidóptero.

Pupas de *D. saccharalis* não foram parasitadas na testemunha e a predação e emergência de adultos de *D. saccharalis* foi 60,1 e 39,9%, respectivamente.

As taxas de parasitismo inferiores à 13,0%, sugerem dificuldade de *T. diatraeae* em localizar hospedeiros em uma área maior a partir do ponto de liberação (Turchin 1998, Chapman *et al* 2009) ou que o número de parasitóides liberados, em relação ao número de plantas, tenha sido insuficiente para alcançar maior percentual de parasitismo. A redução do parasitismo nas armadilhas mais distantes do ponto de liberação pode estar relacionada ao fato de poucos parasitóides realizarem vôos longos devido a tendência de se estabelecerem e ovipositarem dentro ou perto da colônia em que se desenvolveram (Suverkropp *et al* 2009) ou ainda devido ao curto período de vida (Turchin 1998). A distância de recaptura depende do comportamento do parasitóide, do tempo após a liberação, do tamanho da área experimental (Canto-Silva *et al* 2006) das plantas (Pratissoli *et al* 2005a, Suverkropp *et al* 2009), das características intrínsecas da espécie (Pratissoli *et al* 2005a, Canto-Silva *et al* 2006, Soares *et al* 2007), dos fatores climáticos (Fournier & Boivin 2000) e do número de liberações (Kerhli *et al* 2005) ou de parasitóides (Pratissoli *et al* 2005b, Grance 2010).

As elevadas taxas de predação das pupas de *D. saccharalis* podem ter reduzido a concentração de cairomônios emitidos por essas e influenciado a percepção do número de hospedeiros à disposição de *T. diatraeae*, pois esses fatores determinam o comportamento de vôo e a localização por parasitóides (Suverkropp *et al* 2009). Alguns parasitóides localizam hospedeiros por sinais químicos (Eiras & Gerk 2001), mais importantes que pistas visuais (ausência de luz, por exemplo) (Sagarra *et al* 2000) ou fezes, fios de seda, exúvias (Ohara *et al* 2003) emitidos, em alguns casos, em uma fase de desenvolvimento antes do parasitismo (Eiras & Gerk 2001, Grance 2010). No laboratório, a pupa de *D. saccharalis* aliada à presença da

lagarta desse hospedeiro próxima à pupação favoreceu a localização e o parasitismo por *T. diatraeae* devido à percepção e identificação de substâncias liberadas pelas lagartas (Grance 2010). A manipulação do hospedeiro pode afetar o parasitismo por reduzir os cairomônios comparado à quando o hospedeiro se instala naturalmente na planta (Suverkropp *et al* 2008). No entanto, a existência ou concentração desses cairomônios podem mudar com a migração, taxas de predação ou fatores climáticos, como precipitação pluviométrica (Spataro & Bernstein 2007) e temperatura (Pratissoli *et al* 2003, Pandey & Tripathi 2008). Os mecanismos de localização e parasitismo de hospedeiros no campo por *T. diatraeae* são pouco conhecidos, além disso, pode haver redução nas taxas de parasitismo pois o parasitóide mantém o hospedeiro em baixa densidade populacional, sem eliminá-lo, garantindo o futuro da sua própria descendência (Sagarra *et al* 2000).

A menor taxa de parasitismo por *T. diatraeae* pode ainda estar relacionada à redução na procura do hospedeiro contido nas armadilhas uma vez que experimentos de campo envolvem outros fatores, de difícil controle, como a presença de outros insetos, hospedeiros preferenciais ao parasitóide liberado (Pastori *et al* 2008). Por isso, a taxa de parasitismo não deve ser a única medida de dispersão (Suverkropp *et al* 2009), pois pode ser necessário maior número de parasitóides liberados para parasitismo satisfatório (Pereira *et al* 2010ab).

A falta de parasitismo em pupas de *D. saccharalis* na testemunha mostra ausência de *T. diatraeae* e outros parasitóides de pupas na área experimental. Essa ausência de parasitóides de pupa nessa área pode estar associada à aplicação de produtos fitossanitários com efeito residual sobre inimigos naturais. O grupo de predadores encontrados são os mesmos relatados em São Paulo e Minas Gerais (Araújo *et al* 2004; Rossi & Fowler 2004).

A dispersão de *T. diatraeae* em cana-de-açúcar com sete meses de idade da soca atingiu 12 metros, no entanto, o número de parasitóides por unidade de área para o controle efetivo de *D. saccharalis* deve ser ajustado para se obter uma taxa de parasitismo adequado e, esse incremento no número de parasitóide por área pode aumentar a distância de dispersão de *T. diatraeae*.

Conclusão

Fêmeas de *T. diatraeae* encontram e parasitam pupas de *D. saccharalis* até 12 metros do ponto de liberação.

Agradecimentos

À Caroline Martins Motta, bióloga, doutoranda do programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade da Universidade Federal da Grande Dourados, pela identificação dos predadores. À Usina Dourados S/A - Açúcar e Alcool por ceder a área

experimental. À Embrapa Agropecuária Oeste e Usina Dourados S/A - Açúcar e Alcool pelos dados meteorológicos. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte financeiro.

Referências

- Araújo MS, Della Lucia TMC, Veiga CE, Nascimento IC (2004) Efeito da queima da palhada de cana-de-açúcar sobre comunidade de formicídeos. *Ecol Austral* 14: 191-200.
- Canto-Silva CR, Kolberg R, Romanowski HP, Redaelli LR (2006) Dispersal of the egg parasitoid *Gryon gallardoi* (Brethes) (Hymenoptera: Scelionidae) in tobacco crops. *Braz J Biol* 66: 9-17.
- Chapman AV, Kuhar TP, Schultz PB, Brewster CC (2009) Dispersal of *Trichogramma ostrinae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in potato fields. *Environ Entomol* 38: 677-685.
- Eiras AE, Gerk AO (2001) Cairomônios e aprendizagem em parasitóides. p. 127-134. In: Vilella EF, Della Lucia TMC (ed.) Feromônios de insetos: Biologia, química e emprego no manejo de pragas. Holos, Ribeirão Preto-SP, 206p.
- Fávero K (2009) Biologia e técnicas de criação de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) e *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 63p.
- Fournier F, Boivin G (2000) Comparative dispersal of *Trichogramma evanescens* and *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in relation to environmental conditions. *Environ Entomol* 29: 55-63.
- Gauthier N, LaSalle J, Quicke DLJ, Godfray HCJ (2000) Phylogeny of Eulophidae (Hymenoptera: Chalcidoidea), with a reclassification of Eulophinae and the recognition that Elasmidae are derived eulophids. *Syst Entomol* 25: 521-539.
- Grance, ELV (2010) Potencial de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 53p.
- Hagler JR, Jackson CG, Henneberry TJ, Gould JR (2002) Parasitoid mark-release-recapture techniques - II. Development and application of a protein marking technique for *Eretmocerus* spp., parasitoids of *Bemisia argentifolii*. *Biocontrol Sci Technol* 12: 661-675.
- Kehrli P, Lehmann M, Bacher S (2005) Mass-emergence devices: a biocontrol technique for conservation and augmentation of parasitoids. *Biol Control* 32: 191-199.
- Noyes J (2003) Universal Chalcidoidea Database [database on the Internet]. Available from: <http://www.nhm.ac.uk/researchcuration/projects/chalcids/>.
- Ohara Y, Takafuji A, Takabayashi J (2003) Factors affecting the patch-leaving decision of the parasitic wasp *Diadegma semiclausum* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Appl Entomol Zool* 38: 211-214.
- Pandey AK, Tripathi COM (2008) Effect of temperature on the development, fecundity, progeny sex ratio and life-table of *Campoletis chloridae*, an endolarval parasitoid of the pod borer, *Helicoverpa armigera*. *BioControl* 53: 461-471.

- Paron MR, Berti Filho E (2000) Capacidade reprodutiva de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de diferentes hospedeiros (Lepidoptera). *Sci Agric* 57: 355-358.
- Pastori PL, Monteiro LB, Botton M (2008) Capacidade de dispersão de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em pomar adulto de macieira. *Bol San Veg Plagas* 34: 239-245.
- Pereira FF, Zanuncio JC, Tavares MT, Pastori PL, Jacques GC, Vilela EF (2008) New record of *Trichospilus diatraeae* as a parasitoid of the eucalypt defoliator *Thyrintina arnobia* in Brazil. *Phytoparasitica* 36: 304-306.
- Pereira FF, Zanuncio JC, Serrão JE, Zanuncio TV, Pratissoli D, Pastori PL (2010a) The density of females of *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). *An Acad Bras Cienc* 82: 323-331.
- Pereira FF, Zanuncio JC, Pastori PL, Pedrosa ARP, Oliveira HN (2010b). Parasitismo de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) em hospedeiro alternativo sobre plantas de eucalypto em semi-campo. *Rev Ciênc Agron* 41: 715-720.
- Pratissoli D, Fornazier MJ, Holtz AM, Gonçalves JR, Chioramital AB, Zago HB (2003) Ocorrência de *Trichogramma pretiosum* em áreas comerciais de tomate, no Espírito Santo, em regiões de diferentes altitudes. *Hortic Bras* 21: 73-76.
- Pratissoli D, Vianna UR, Zago HB, Pastori PL (2005a) Capacidade de dispersão de *Trichogramma* em tomateiro estaqueado. *Pesq Agropec Bras* 40: 613-616.
- Pratissoli D, Thuler RT, Andrade GS, Zanotti LCM, Silva AF (2005b) Estimativa de *Trichogramma pretiosum* para o controle de *Tuta absoluta* em tomateiro estaqueado. *Pesq Agropec Bras* 40: 715-718.
- Rodrigues MAT (2010) Exigências térmicas e hídricas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 52p.
- Rossi MN, Fowler HG (2004) Predaceous ant fauna in new sugarcane fields in the state of São Paulo, Brazil. *Braz Arch Biol Technol* 47: 805-811.
- Sagarra LA, Vincent C, Peters NF, Stewart RK (2000) Effect of host density, temperature, and photoperiod on the fitness of *Anagyrus kamali*, a parasitoid of the hibiscus mealybug *Maconellicoccus hirsutus*. *Entomol Exp Appl* 96: 141-147.
- Soares MA, Leite GLD, Zanuncio JC, Rocha SL, Sá VGM, Serrão JE (2007) Flight capacity, parasitism and emergence of five *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) species from forest areas in Brazil. *Phytoparasitica* 35: 314-318.
- Spataro T, Bernstein C (2007) Influence of environmental conditions on patch exploitation

- strategies of parasitoids. Behav Ecol 18: 742-749.
- Steinbauer MJ, Short MW, Schmidt S (2006) The influence of architectural and vegetational complexity in eucalypt plantations on communities of native wasp parasitoids: Towards silviculture for sustainable pest management. For Ecol Manage 233: 153-164.
- Suverkropp BP, Dutton A, Bigler F, Van Lenteren JC (2008) Oviposition behaviour and egg distribution of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*, on maize, and its effect on host finding by *Trichogramma* egg parasitoids. Bull Insectology 61: 303-312.
- Suverkropp BP, Bigler F, Van Lenteren JC (2009) Dispersal behaviour of *Trichogramma brassicae* in maize fields. Bull Insectology 62: 113-120.
- Turchin P (1998) Quantitative analysis of movement: measuring and modeling population redistribution in animals and plants. Sinauer associates, Sunderland, 396p.
- Zaché B, Wilcken CF, Dacosta RR, Soliman EP (2010) *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), a new parasitoid of *Melanolophia consimilaria* (Lepidoptera: Geometridae). Phytoparasitica 38: 355-357.

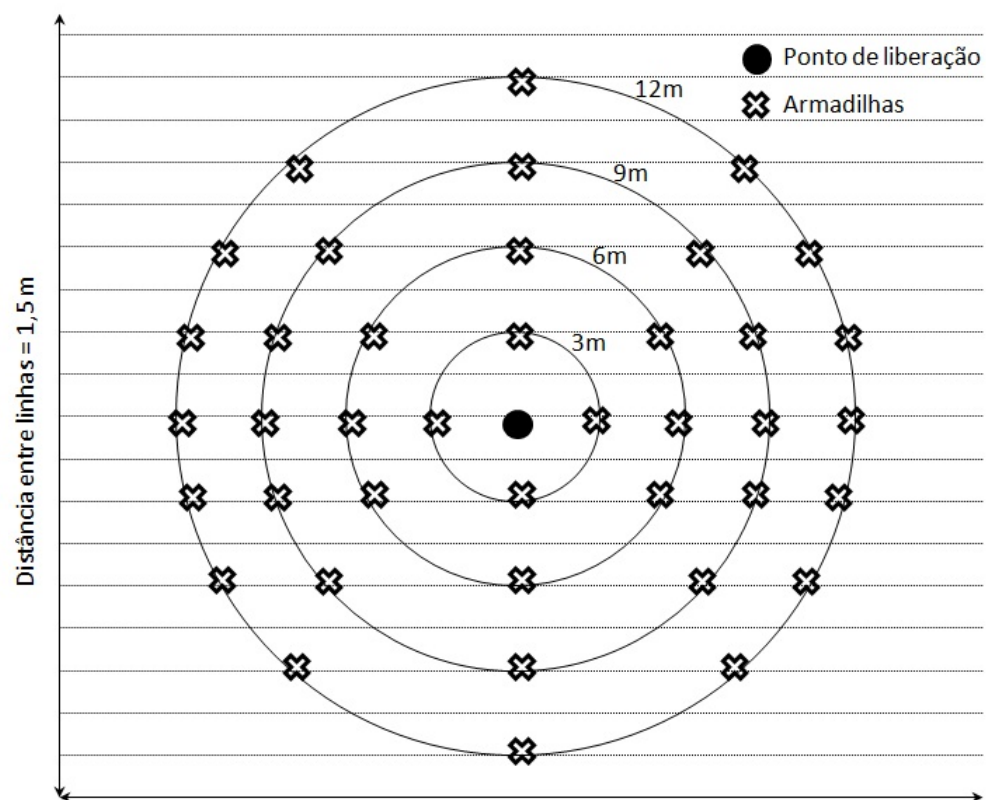


Figura 1. Área experimental (vista aérea) com ponto central de liberação de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) e posição das armadilhas com pupas de *Diatraea saccharalis* (Fabri.) (Lepidoptera: Crambidae) em diferentes distâncias em cana-de-açúcar soca com sete meses. Dourados, Mato Grosso do Sul, 2009.

CONCLUSÕES FINAIS

CONCLUSÕES FINAIS

A elevação da temperatura aumentou a velocidade de desenvolvimento de *T. diatraeae* em pupas de *A. gemmatalis*.

A temperatura base (T_b) e a constante térmica (K) de *T. diatraeae* em pupas de *A. gemmatalis* é de 8,40°C e 328,41 graus-dia (GD), respectivamente.

Na faixa térmica de 22 à 25°C, *T. diatraeae* apresenta melhor desempenho reprodutivo em pupas de *A. gemmatalis*.

Trichospilus diatraeae com até 96 horas de idade se reproduz satisfatoriamente em pupas do hospedeiro alternativo *A. gemmatalis* com idade de até 96 horas, embora o aumento da idade das fêmeas de *T. diatraeae* promova redução de alguns parâmetros.

Fêmeas de *T. diatraeae* com até 24 horas estão aptas para realizar o parasitismo.

A emergência, o número de indivíduos e a longevidade dos descendentes de *T. diatraeae* reduzem em pupas de *A. gemmatalis* após armazenamento dessas a frio (zero ou 5°C).

O armazenamento a frio (5°C) por curto período (24 horas) de pupas parasitadas, não afeta a reprodução de *T. diatraeae* e pode ser uma alternativa para viabilizar a embalagem para transporte.

O armazenamento a frio (zero ou 5°C) de *T. diatraeae* na fase de pupa dentro do hospedeiro alternativo, *A. gemmatalis* por mais de 24 horas não é recomendado para preservar os parâmetros biológicos desse parasitóide.

Fêmeas de *T. diatraeae* encontram e parasitam pupas de *D. saccharalis* até 12 metros do ponto de liberação.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste trabalho incrementam o conhecimento sobre o desenvolvimento e reprodução de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) no hospedeiro alternativo *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), visto que a técnica de criação massal desse lepidóptero em laboratório já é conhecida. Contribui também na avaliação do potencial para armazenamento a frio, no entanto, para as temperaturas (zero ou 5°C) e tempos de armazenamento (um, três, seis, nove ou 12 dias) estudados, houve perda de qualidade de *T. diatraeae*, candidato a agente de controle biológico de pragas de importância agrícola e florestal. *T. diatraeae* não é indicado para o controle biológico de *A. gemmatalis*, uma vez que a pupa desse lepidóptero localiza-se no solo e, em testes preliminares, o parasitóide não foi capaz de encontrá-la. O emprego do controle biológico com esse parasitóide é uma alternativa limpa e segura principalmente para espécies-praga que não empupam no solo, no entanto, somente estudos detalhados da interação parasitóide x praga podem indicar o real potencial de uso.

Os experimentos à campo mostraram-se desafiadores, visto que praticamente não existem trabalhos em campo com parasitóides de pupa que possuem comportamento diferenciado aos de parasitóides de ovos e assim, a metodologia utilizada nesse presente estudo foi adaptada dos estudos com parasitóides de ovos. Além disso, existe uma complexidade de fatores que não podem ser controlados no campo. Portanto, estudos visando determinar a quantidade de parasitóides a serem liberados por unidade de área ou em função da população da praga alvo e ajustes para refinar o conhecimento da dispersão devem ser realizados.

©Patrik Luiz Pastori