

# UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA/FITOTECNIA

## CRISTIANE RAMOS COUTINHO

ANÁLISES BIOLÓGICAS E MOLECULAR DE LINHAGENS DE Trichogramma pretiosum (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) COLETADAS NO ESTADO DO CEARÁ

FORTALEZA 2018

### CRISTIANE RAMOS COUTINHO

# ANÁLISES BIOLÓGICAS E MOLECULAR DE LINHAGENS DE *Trichogramma*pretiosum (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) COLETADAS NO ESTADO DO CEARÁ

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos à obtenção do título de *Doctor of Science* em Agronomia/Fitotecnia. Área de concentração: Entomologia Agrícola.

Orientador: Prof. Patrik Luiz Pastori, D. Sc.

Coorientadores:

Prof. Richard Stouthamer, Ph. D.

Pesq<sup>a</sup>. Nivia da Silva Dias-Pini, D. Sc.

# Dados Internacionais de Catalogação na Publicação Universidade Federal do Ceará Biblioteca Universitária Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

#### C895a Coutinho, Cristiane Ramos.

Análises biológicas e moleculares de linhagens de Trichogramma pretiosum (Hymenoptera: Trichogrammatidae) coletadas no estado do Ceará/ Cristiane Ramos Coutinho. – 2018. 119 f.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Fitotecnia), Fortaleza, 2018.

Orientação: Prof. Dr. Patrik Luiz Pastori.

1. Parasitoides de ovos. 2. linhagens adaptadas. 3. fêmeas telítocas. 4. Período de exposição. 5. Parâmetros biológicos. I. Título.

CDD 630

### CRISTIANE RAMOS COUTINHO

# ANÁLISES BIOLÓGICAS E MOLECULAR DE LINHAGENS DE *Trichogramma*pretiosum (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) COLETADAS NO ESTADO DO CEARÁ

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Fitotecnia) da Universidade Federal do Ceará, como requisito à obtenção do título de *Doctor Scientiae* em Agronomia (Fitotecnia). Área de concentração: Entomologia Agrícola.

Aprovada em: 31/07/2018.

### BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Patrik Luiz Pastori (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Nivia da Silva Dias-Pini (Coorientadora)
Embrapa Agroindústria Tropical

Dr. Fabricio Fagundes Pereira
Universidade Federal da Grande Dourados

Dr. Mauricio Sekiguchi de Godoy
Universidade Federal Rural do Semi-árido

Dra. Elaine Facco Celin Universidade Federal do Ceará (UFC)

À Deus, por me guiar nas escolhas dos melhores caminhos.

Aos meus pais Waldecy Gonçalves Coutinho e Débora Ramos Coutinho, e aos meus irmãos, Delane Coutinho e Rodrigo Coutinho pelo amor incondicional, incentivo, conselhos e ensinamentos.

#### **AGRADECIMENTOS**

À Deus por guiar meus passos e iluminar meu caminho, me dando forças para seguir em frente.

À Universidade Federal do Ceará (UFC) e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia pela oportunidade concedida para realização do Curso de Doutorado em Agronomia/Fitotecnia com ênfase em Entomologia Agrícola.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro por meio da concessão da bolsa de estudo para o programa da UFC, bem como a bolsa para o Programa de Doutorado-Sanduíche no Exterior (PDSE) na Universidade da Califórnia (UCR), Riverside, California, Estados Unidos.

Ao meu orientador prof. Patrik Luiz Pastori, pela oportunidade, orientação, paciência, ensinamentos, apoio, compreensão, amizade e conselhos. Obrigada por acreditar no meu potencial.

Ao coorientador no exterior prof. Richard Stouthamer, e ao técnico de laboratório Paul Rugman-Jones, pela oportunidade de execução de parte da pesquisa na Universidade da Califórnia (UCR), Riverside. Agradeço pela orientação, ensinamentos e pela oportunidade dada à minha formação profissional.

Aos professores e pesquisadores: Pesq<sup>a</sup>. Nivia da Silva Dias-Pini, Pesq<sup>a</sup>. Elaine Facco Celin, Prof. Mauricio Sekiguchi de Godoy e Prof. Fabricio Fagundes Pereira, pela participação na banca examinadora, pelo tempo dedicado para a leitura e correções.

Aos queridos amigos da turma de Pós-Graduação, Rosenya, Jean, Samara, Darlene, Falkner, Daniel, Hercules e Wendson pelas "saídas de sexta", e amizade, em especial a Marilena.

Aos queridos amigos do Laboratório de Entomologia Aplicada (LEA): Ruan, Marianne, Dalila, Débora, Adson, Caio, Camila, Kassio, Laura, Lucas, Mey, Roberta, Sabrina, Thais Paz, Thais Mota e Alice. Em especial a Lorena, Suyanne e Carol pela amizade mais que especial.

Aos amigos do laboratório de Entomologia da Universidade da California, o colombiano Francesc Marco, o italiano Marco Gebiola, a mexicana Veronica Fernandez, a chinesa Iris Tai Chien, o japonês Andrew K Yoshimoto e a americana Christine Dodge. Em especial a árabe Deena Husein e a iraniana Valeh Ebrahimi pela amizade, paciência e ensinamentos durante o período de intercâmbio.

À americana Assunta Vickers, pessoa doce, educada e paciente, na qual tive o prazer de conviver nos meus últimos meses de intercâmbio.

Ao amigo Reivany Eduardo, e aos brasileiros que conheci em Riverside, Fabiana, Glauber, Evanido, Danielle, Doutor Jorge, Mirayana e Tiago. Em especial as amigas Juliana e Thais.

Às amigas irmãs, Poliana, Mônica, Vitória, Conceição e Natália, pela amizade e por todos os bons momentos vividos na nossa república.

Aos sócios Marianne Barbosa e Ruan Oliveira e ao prof. Patrik pela amizade e dedicação para crescimento da IN Soluções Biológicas LTDA.

Aos meus pais Débora e Waldecy, e aos meus irmãos Delane e Rodrigo, pela paciência, amor e carinho.

Aos meus amados afilhados, Pedro, Luiz Guilherme e Arthur.

A todos os amigos e principalmente a todos os meus familiares que de forma direta ou indireta contribuíram para a minha formação.

#### **RESUMO GERAL**

O estudo de espécies/linhagens de parasitoides locais é item essencial para implantação de programas de controle biológico, visto que, são adaptados aos habitat's no qual serão liberados. Objetivou-se com este estudo, determinar parâmetros biológicos de duas linhagens de Trichogramma pretiosum Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) coletadas nas zonas rurais de Ubajara e Guaraciaba do Norte, munícipios da região da Serra da Ibiapaba-CE afim de garantir a qualidade da progênie e estabelecer os primeiros parâmetros para possibilitar o uso no controle biológico. A maioria dos experimentos foram realizados no Laboratório de Entomologia Aplicada (LEA) da Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, Ceará, BR. Avaliou-se parâmetros biológicos das linhagens Ubajara (1) e Guaraciaba (2) alternando o número de fêmeas do parasitoide (1, 3, 6 ou 9 fêmeas) e a densidade (10, 20, 30, 40 ou 50) de ovos de Anagasta kuehniella Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), de Neoleucinodes elegantalis Guinée (Lepidoptera: Crambidae) e de Spodoptera frugiperda J E Smith (Lepidoptera: Noctuidae). Utilizando as melhores densidades, avaliou-se também o desempenho das duas linhagens nos hospedeiros em tempos de exposição ao parasitismo (6, 12, 24 e 48 horas). Também foi determinado o impacto da temperatura (15, 20, 25, 30 e 35°C) na biologia das linhagens determinando-se assim as exigências térmicas dos parasitoides em ovos de N. elegantalis. Os experimentos foram instalados em delineamento experimental inteiramente casualizado com 12 repetições. A melhor densidade foi determinada pela primeira derivada da regressão parabolóide dos dados de porcentagem de parasitismo e de emergência. Os demais parâmetros: razão sexual; número de parasitoides emergidos por ovo; longevidade de fêmeas e machos e duração do ciclo (ovo-adulto) foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Duncan (p ≤0,05). Os requerimentos térmicos foram obtidos utilizando-se o método da hipérbole. Um dos experimentos foi realizado no Laboratório de Entomologia da Universidade da Califórnia (UCR), Riverside, Califórnia, USA no qual procurou-se detectar infecções naturais de Wolbachia nas linhagens de Trichogramma. Foram realizadas extrações de DNA e reação em cadeia da polimerase (PCR), por meio dos primers ITS-2 e 16s. As maiores taxas de parasitismo foram observadas para a linhagem 2 em todos os hospedeiros. As densidades de 7,3 fêmeas/26,4 ovos de A. Kuehniella, 3,3 fêmeas/40,1 ovos de N. elegantalis e 4,5 fêmeas/10,8 ovos de S. frugiperda proporcionaram maiores taxas de emergência para a linhagem 2. As densidades parasitoide/hospedeiro de 6:10 e 3:10 A. kuehniella, 6:20 e 6:10 N. elegantalis, 9:50 e 9:20 S. frugiperda nas linhagens Ubajara e Guaraciaba, respectivamente, apresentaram resultados favoráveis no que se refere à

reprodução das linhagens locais. As linhagens 1 e 2 apresentaram potencial semelhante nos diferentes tempos de exposição estudados e a temperatura alterou os parâmetros biológicos, sendo a duração do ciclo das linhagens 1 e 2 decrescente com o aumento da mesma. A análise molecular não detectou presença de *Wolbachia* nas linhagens locais. Os principais parâmetros biológicos das linhagens foram determinados mostrando-se satisfatórios, ratificando, assim, que um dos primeiros passos, visando o uso das linhagens em programas de controle biológico, foi obtido com sucesso.

**Palavras-chave:** Parasitoides de ovos. Linhagens adaptadas. Fêmeas telítocas. Período de exposição. Parâmetros biológicos. Controle biológico.

#### ABSTRACT GENERAL

The study of species / lineages of local parasitoids is an essential item for the implementation of biological control programs, since they are adapted to the habitats in which they will be released. The objective of this study was to determine the biological parameters of two Trichogramma pretiosum Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) lineages collected in the rural areas of Ubajara and Guaraciaba do Norte, municipalities in the region of Serra da Ibiapaba, Ceará State, in order to guarantee the quality of the progeny and establish the first parameters to allow the use in biological control. The majority of experiments were carried out at the Laboratory of Applied Entomology (LEA) of the Federal University of Ceará (UFC), Fortaleza, Ceará, Brazil. The biological parameters of the Ubajara (1) and Guaraciaba (2) lineages were evaluated by alternating the number of females of the parasitoid (1, 3, 6 or 9) females) and the density (10, 20, 30, 40 or 50) of Anagasta kuehniella Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), Neoleucinodes elegantalis Guinée (Lepidoptera: Crambidae) and Spodoptera frugiperda J E Smith (Lepidoptera: Noctuidae). Using the best densities, it was also evaluated the performance of the two lineages in the hosts at times of exposure to parasitism (6, 12, 24 and 48 hours). It was also determined the temperature of impact (15, 20, 25, 30 and 35°C) in the lineages biology, thus determining the thermal requirements of parasitoids on N. elegantalis eggs. The experiments were installed in a completely randomized experimental design with 12 replicates. The best density was determined by the first derivative of the paraboloid regression of percentage of parasitism and emergency data. The other parameters: sexual ratio; number of parasitoids emerged per egg; females and males longevity and cycle duration (egg-adult) were submitted to ANOVA and the means compared by Duncan's test (p ≤0.05). The thermal requirements were obtained using the hyperbola method. One of the experiments was carried out at the Laboratory of Entomology of the University of California (UCR), Riverside, California, USA, in which it was tried to detect natural infections of Wolbachia in the lineages of *Trichogramma*. DNA extractions and polymerase chain reaction (PCR) were carried out using primers ITS-2 and 16s. The highest rates of parasitism were observed for lineage 2 in all hosts. The densities of 7,3 females/26,4 eggs of A. kuehniella, 3,3 females / 40,1 eggs of N. elegantalis and 4,5 females / 10,8 eggs of S. frugiperda provided higher emergence rates for lineage 2. The parasitoid / host densities of 6:10 and 3:10 A. kuehniella, 6:20 and 6:10 N. elegantalis, 9:50 and 9:20 S. frugiperda in the Ubajara and Guaraciaba lineages, respectively, presented favorable results in the which refers to the reproduction of the local lineages. Lineages 1 and 2 showed similar potential at the different

exposure times studied and the temperature altered the biological parameters, with the cycle duration of lineages 1 and 2 decreasing with the increase of the same. Molecular analysis did not detect presence of *Wolbachia* in the local lineages. The main biological parameters of the lineages were determined to be satisfactory, thus confirming that one of the first steps aimed at the use of the lineages in biological control programs was successfully obtained.

**Keywords**: Parasitoids of eggs. Adapted lineages. Thelytokous females. Exposure period. Biological parameters. Biological control.

# SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	14
2	DENSIDADE IDEAL DE FÊMEAS DE LINHAGENS DE Trichogramma	
3	pretiosum (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) PARA	
	DESENVOLVIMENTO EM OVOS DE INSETOS-	
	HOSPEDEIROS	18
	CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DE LINHAGENS DE	
	Trichogramma pretiosum (HYMENOPTERA:	
	TRICHOGRAMMATIDAE) EM DIFERENTES DENSIDADES DE	
	OVOS DE INSETOS-HOSPEDEIROS	35
	DESEMPENHO DE LINHAGENS DE Trichogramma pretiosum	
4	(HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) EM DIFERENTES	
	TEMPOS DE EXPOSIÇÃO E HOSPEDEIROS	55
5	EXIGÊNCIAS TÉRMICAS DE LINHAGENS DE Trichogramma	
	pretiosum RILEY (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) EM	
	OVOS DE Neoleucinodes elegantalis GUENÉE (LEPIDOPTERA:	
	CRAMBIDAE)	74
6	ANÁLISE MOLECULAR PARA IDENTIFICAÇÃO DE Wolbachia	
	(RICKETTSIALES: RICKETTSIACEAE) EM LINHAGENS DE	
	Trichogramma pretiosum (HYMENOPTERA:	
	TRICHOGRAMMATIDAE) COLETADAS NO ESTADO DO CEARÁ	89
7	CONCLUSÕES FINAIS	104
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS	105
	REFERÊNCIAS	107

# 1 INTRODUÇÃO GERAL

A região da Serra da Ibiapaba - Estado do Ceará, Brasil, destaca-se na produção de frutas e de hortaliças do Norte/Nordeste do país (GOMES, 2015). mas entraves à produção dessas culturas são frequentemente citados e, dentre esses, a ocorrência de insetos-praga, os quais acarretam danos às plantas e especialmente aos frutos comprometendo a produtividade (BARBOSA *et al.*, 2008; SOUZA, 2014).

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é uma hortaliça de importância econômica e social, devido ao volume, produção e geração de empregos (BARROS *et al.*, 2014; GOMES & CASTRO, 2017). No Brasil, o tomate é cultivado em todas as regiões brasileiras, ocupando no total uma área de 63.300 hectares (IBGE, 2017). O município Guaraciaba do Norte, localizado na Serra da Ibiapaba, está entre as regiões mais produtoras de tomate do Estado do Ceará.

Dentre as pragas que atacam a cultura, ressaltam-se os insetos broqueadores de frutos como: *Tuta absoluta* Meiryck (Lepidoptera: Gelechiidae), *Neoleucinodes elegantalis* Guinée (Lepidoptera: Crambidae), *Helicoverpa zea* Boddie (Lepidoptera: Noctuidae) e *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) (PICANÇO *et al.*, 2007; PRATISSOLI *et al.*, 2015). Durante o desenvolvimento, ou na maior parte, os broqueadores estão presentes nos frutos, onde se alimentam e danificam a polpa, causando danos diretos ao produto comercializável. Os danos indiretos são ocasionados pelos orifícios deixados pelos broqueadores, os quais favorecem a entrada de patógenos. Tais danos tornam os frutos impróprios para consumo ou industrialização (PICANÇO *et al.*, 2007).

Em função do hábito dos broqueadores, uma alternativa viável é a utilização de parasitoides *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae), pois esses parasitam os ovos desses insetos-praga, impedindo a emergência das lagartas e, consequentemente, os danos causados pelos mesmos. *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) é a espécie mais amplamente distribuída, sendo encontrada frequentemente em diversas partes do mundo. No Brasil essa espécie está associada a uma vasta gama de hospedeiros parasitando principalmente ovos de insetos da ordem Lepidoptera (QUERINO, 2002; WAJNBERG, 2010).

Alguns poucos produtores do Estado do Ceará até conhecem e utilizam o parasitoide de ovos *Trichogramma* spp. como forma de controle de lepidópteros-praga, porém a totalidade desconhece a existência de populações naturais desses "amigos" na área e utilizam parasitoides 'importados' de empresas que produzem e comercializam o parasitoide,

empresas estas, localizadas especialmente nas regiões Sul e Sudeste do Brasil. Todavia, para o sucesso da implementação do controle biológico, esses parasitoides devem ser adaptados aos habitat's no qual serão liberados (HASSAN, 1994).

O uso de parasitoides locais é uma alternativa promissora, uma vez que, atendem a essa condição. No entanto, para que espécies/linhagens locais possam ser utilizadas como alternativa no controle de pragas existe a necessidade de multiplicação das mesmas em larga escala (PARRA & CÔNSOLI, 2009).

Em criações massais torna-se imprescindível garantir a qualidade do inimigo natural (VREYSEN & ROBINSON, 2010). A avaliação do melhor hospedeiro a ser utilizado na multiplicação do parasitoide, a densidade de ovos do hospedeiro, o tamanho e a qualidade do mesmo, o tempo de exposição do parasitoide/hospedeiro e o conhecimento das exigências térmicas são fatores importantes na aceitação pelo parasitoide, uma vez que, estes fatores refletem diretamente na qualidade da progênie, influenciando características como porcentagem de parasitismo e de emergência, razão sexual, número de parasitoides emergidos, duração do ciclo e longevidade (PASTORI *et al.*, 2008; PEREIRA *et al.*, 2010; ZART *et al.*, 2012; VARGAS *et al.*, 2014).

Um dos objetivos dos programas de controle biológico aplicado é a produção de fêmeas de parasitoides, uma vez que, quanto maior for o seu número, menor será o custo com a criação e, consequentemente, de controle (MONTOYA *et al.*, 2011). Algumas estratégias são utilizadas visando à maior produção de fêmeas, como exemplo, o emprego do endossimbionte *Wolbachia* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) (ALMEIDA *et al.*, 2010).

Nesse contexto, objetivou-se com esse estudo, determinar parâmetros biológicos de duas linhagens de *T. pretiosum* coletadas nas zonas rurais de Ubajara e de Guaraciaba do Norte, municípios da região da Serra da Ibiapaba-CE, afim de garantir a qualidade da progênie e estabelecer os primeiros parâmetros para possibilitar o uso no controle biológico.

 $NOTA^{1}$ .

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Esta tese segue normas da ABNT com adaptações para as normas do guia de normalização de trabalhos acadêmicos da Universidade Federal do Ceará (UFC).

# REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, R. P.; VAN LENTEREN, J. C.; STOUTHAMER, R. Does *Wolbachia* infection affect *Trichogramma atopovirilia* behaviour? **Brazilian Jounal of Biology**, v. 70, p. 435-442, 2010.
- BARBOSA, L. R.; CARVALHO, C. F.; OUZA, B.; AUAD, A. M. Eficiência de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) no controle de *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae) em pimentão (*Capsicum annuum* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, p. 1113-1119, 2008.
- BARROS, P. C. S.; COSTA, A. R.; SILVA, P. C.; COSTA, R. A. Torta de filtro como biofertilizante para produção de mudas de tomate industrial em diferentes substratos. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 9, p. 265 270, 2014.
- GOMES, M. D. A. 2015. **Sustentabilidade de sistemas de cultivo irrigados orgânico e convencional de base familiar**. 78 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.
- GOMES, S. K. S.; CASTRO, M. T. Monitoramento de insetos em plantios de tomate com adubação silicatada. **Biodiversidade**, v. 16, p. 60-67, 2017.
- HASSAN, S. A. Strategies to select *Trichogramma* species for use in biological control. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S. A. (Ed.). **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: Oxford University, cap. 3, p. 55-71, 1994.
- IBGE- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Disponível em: <a href="https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618">https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618</a>>. Acesso em: 02 de Maio de 2018.
- MONTOYA, P.; CANCINO, J.; LACHAUD, G.P.; LIEDO, P. Host size, superparasitism and sex ratio in mass-reared *Diachasmimorpha longicaudata*, a fruit fly parasitoid. **Bio Control**, v. 56, p. 11-17, 2011.
- PARRA, J. R. P.; CÔNSOLI, F. L. Criação massal e controle de qualidade de parasitoides de ovos. In: BUENO, V. H. P. **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Lavras: Editora UFLA, p. 169-197, 2009.
- PASTORI, P. L., MONTEIRO, L. B.; BOTTON, M. 2008. Biologia e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) linhagem bonagota criado em ovos de *Bonagota salubricola* (Meyrick) (Lepidoptera, Tortricidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 52, p. 472-476, 2008.
- PEREIRA, F. F. ZANUNCIO, J. C.; SERRAO, J. E.; ZANUNCIO, T. V.; PRATISSOLI, D.; PASTORI, P. L. The density of females of *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 82, p. 323-331, 2010.

- PICANÇO, M.; BACCI, L.; CRESPO, A. L. B.; MIRANDA, M. M. M.; MARTINS, J. C. Effect of integrated pest management practices on tomato production and conservation of natural inimies. **Agricultural and Forest Entomology**, v. 9, p. 327-335, 2007.
- PRATISSOLI, D.; LIMA, V. L. S.; PIROVANI, V. D.; LIMA, W. L. Occurrence of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on tomato in the Espírito Santo state. **Horticultura braileira**, v. 33, p. 101-105, 2015.
- QUERINO, R. B. 2002. **Taxonomia do gênero** *Trichogramma* **Westwood, 1833** (**Hymenoptera: Trichogrammatidae**) **na América do Sul**. 214 p. Tese (Doutorado em Entomologia) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" /ESALQ, Piracicaba, 2002.
- SOUZA, I. L. 2014. Controle biológico de pragas do pimentão (*Capsicum annuum* L.) orgânico em cultivo protegido associado a manjericão (*Ocimum basilicum* L.). 61 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.
- VARGAS, E. L.; PEREIRA, F. F.; CALADO, V. R. F.; GLAESER, D. F.; RODRIGUES, B. A. C.; SILVA, N. V. Densidade de fêmeas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) por pupa de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Sitientibus série Ciências Biológicas**, v. 13, p. 1-7, 2014.
- VREYSEN, M. J. B.; ROBINSON, A. S. Ionising radiation and area-wide management of insect pests to promote sustainable agriculture: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 1, p. 1-18, 2010.
- WAJNBERG, E. Genetics of the behavioral ecology of egg parasitoids. In: CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on** *Trichogramma*. Dordrecht: Springer, p. 150-159, 2010.
- ZART, M.; BERNARDI, O.; NUNES, A. M.; ANDERSSON, F. S.; MANFREDI-COIMBRA, S.; BUSATO, G. R.; GARCIA, M. S. Influência do fotoperíodo sobre aspectos biológicos e parasitismo de ovos de *Anagasta kuenhiella* (Lepidoptera: Pyralidae) por *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera, Trichogrammatidae). **EntomoBrasilis**, v. 5, p. 115-119, 2012.

2 DENSIDADE IDEAL DE FÊMEAS DE LINHAGENS DE *Trichogramma pretiosum* (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) PARA DESENVOLVIMENTO EM OVOS DE INSETOS-HOSPEDEIROS

#### **RESUMO**

A densidade ideal de fêmeas parasitoides a serem utilizadas em relação aos hospedeiros deve ser estudada visando maximizar a produção e melhorar a eficiência do parasitoide em campo. Objetivou-se com este estudo, avaliar parâmetros biológicos de duas linhagens de Trichogramma pretiosum Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) alterando o número de fêmeas do parasitoide e a densidade de ovos de Anagasta kuehniella Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), de Neoleucinodes elegantalis Guenée (Lepidoptera: Crambidae) e de Spodoptera frugiperda J.E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae). Foram utilizadas 1, 3, 6 ou 9 fêmeas de T. pretiosum das linhagens Ubajara e Guaraciaba com até 24 horas de idade para 10, 20, 30, 40 ou 50 ovos de cada hospedeiro com até 24 horas de desenvolvimento embrionário. Os experimentos foram implantados em delineamento experimental inteiramente casualizado com 12 repetições. A porcentagem de parasitismo [(Número de ovos parasitados/número total de ovos) x 100] e porcentagem de emergência [(Número de ovos escuros com orifício /número total de ovos parasitados) x 100] foram os parâmetros avaliados. Os dados foram submetidos à análise de regressão escolhendo-se os modelos baseando-se no coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>), na significância dos coeficientes de regressão pelo teste F (até 5% de probabilidade) e pelo melhor ajuste às características dos dados. As maiores taxas de parasitismo, para todos os hospedeiros, foram observadas quando utilizada a linhagem Guaraciaba. As densidades de 4,3 fêmeas e 25,9 ovos de A. kuehniella, 4,2 fêmeas e 23 ovos de N. elegantalis e 5,6 fêmeas e 44,1 ovos de S frugiperda proporcionaram maior percentual de emergência para a linhagem Ubajara. As maiores taxas de emergência de T. pretiosum linhagem Guaraciaba foram obtidas nas densidades de 7,3 fêmeas do parasitoide e 26,4 ovos de A. kuehniella, 3,3 fêmeas e 40,1 ovos de N. elegantalis e 4,5 fêmeas do inimigo natural e 10,8 ovos de S. frugiperda.

**Palavras-chave:** Parasitoides locais. Produção massal. Densidade parasitoide/hospedeiro. Controle biológico.

#### **ABSTRACT**

The ideal density of parasitoid females to be used in relation to the hosts should be studied in order to maximize the production and improve the efficiency of the parasitoid in the field. The objective of this work was to evaluate the parasitism and the emergence of two Trichogramma pretiosum Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) lineage, alternating the number of females of the parasitoid and the egg density of Anagasta kuehniella Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), of Neoleucinodes elegantalis Guenée (Lepidoptera: Crambidae) and Spodoptera frugiperda JE Smith (Lepidoptera: Noctuidae). 1, 3, 6 or 9 T. pretiosum females of the Ubajara and Guaraciaba strains aged up to 24 hours of age were used for 10, 20, 30, 40 or 50 eggs of each host with up to 24 hours embryonic development. The experiments were implanted in a completely randomized experimental design with 12 replications. The following parameters were evaluated: Percentage of parasitism [Number of parasitized eggs / total number of eggs x 100] and percentage of emergence [Number of dark eggs with hole / total number of parasitized eggs x 100]. The data were submitted to regression analysis, the models being based on the coefficient of determination (R2), the significance of the regression coefficients by the F test (up to 5% probability), and by the best fit to the characteristics of the data. The highest rates of parasitism for all hosts were observed when using the Guaraciaba lineage. The densities of 4.3 females and 25.9 eggs of A. kuehniella, 4.2 females and 23.0 eggs of N. elegantalis, and 5.6 females and 44.1 eggs of S. frugiperda provided a higher emergency percentage for the Ubajara lineage. The highest emergence rates of T. pretiosum Guaraciaba line were obtained in the densities of 7.3 females of the parasitoid and 26.4 eggs of A. kuehniella, 3.3 females and 40.1 eggs of N. elegantalis and 4.5 females of the natural enemy and 10.8 eggs of the host S. frugiperda.

**Keywords:** Local parasitoids. Mass production. Parasitoid / host density. Biological control.

# 1 INTRODUÇÃO

Parasitoides de ovos do gênero *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) estão amplamente distribuídos na América do Sul. No Brasil, a ocorrência natural de *Trichogramma* spp. corresponde a 63,4% do registrado em todo continente sul-americano (ZUCCHI *et al.*, 2010) e a espécie *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) está associada a uma vasta gama de hospedeiros parasitando principalmente ovos de insetos da Ordem Lepidoptera (WAJNBERG, 2010, PARRA, 2014).

Para o sucesso da implementação do controle biológico, esses parasitoides devem ser adaptados aos habitat's nos quais serão liberados (HASSAN, 1994). O uso de parasitoides locais é uma alternativa promissora, uma vez que, atende a essa condição. No entanto, para que espécies/linhagens locais possam ser utilizadas como alternativa no controle de pragas existe a necessidade de coleta e multiplicação das mesmas em larga escala (PARRA & CÔNSOLI, 2009).

Nas criações massais torna-se imprescindível garantir a qualidade do inimigo natural, visto que, parasitoides produzidos de forma adequada apresentam maior capacidade para localizar e parasitar o hospedeiro em condições de campo (VREYSEN & ROBINSON, 2010). O hospedeiro é crucial em programas de controle biológico com parasitoides, pois as caracteristicas físico-químicas podem afetar a aceitação e adaptação das espécies e/ou linhagens, interferindo dessa forma nas características biológicas, prejudicando a qualidade do parasitoide produzido e sua atução em campo (MAGALHÃES *et al.*, 2012; SIQUEIRA *et al.*, 2012).

A densidade de parasitoides por hospedeiro afeta a capacidade de parasitismo o que reflete diretamente na qualidade do parasitoide, influenciando características como razão sexual da prole, porcentagem de emergência, duração do ciclo, tamanho do corpo e longevidade. Diante disso, torna-se imprescindível o aprimoramento de metodologias de criação massal de parasitoides, com o objetivo de definir, principalmente, a densidade ideal a ser utilizada em relação ao hospedeiro, visando reduzir custos com mão de obra, maximizando a produção e melhorando a eficiência do parasitoide em campo, uma vez que, as liberações seriam realizadas com a quantidade de parasitoides necessária em relação à densidade populacional do hospedeiro na área (SAGARRA *et al.*, 2000; PEREIRA *et al.*, 2010; VARGAS *et al.*, 2014; ZART *et al.*, 2012).

Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar parâmetros biológicos de duas linhagens de *T. pretiosum* coletadas na região da Serra da Ibiapaba, Estado do Ceará, alterando o número de fêmeas do parasitoide e a densidade de ovos de *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), de *Neoleucinodes elegantalis* Guenée (Lepidoptera: Cr ambridae) e de *Spodoptera frugiperda* J E Smith (Lepidoptera: Noctuidae).

# 2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Entomologia Aplicada (LEA) da Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, Ceará, com duas linhagens (Ubajara e Guaraciaba) de *T. pretiosum* coletadas naturalmente parasitando ovos de *N. elegantalis* em frutos de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) em áreas comerciais na região da Serra da Ibiapaba, Ceará. A primeira linhagem foi coletada na zona rural do município de Ubajara em condições de cultivo de tomateiro no sistema convencional, e a segunda no município de Guaraciaba do Norte em condições de cultivo de tomateiro no sistema orgânico. O município de Ubjara está situado a uma latitude de 3°51'S, longitude 40°55'W e uma altitude média de 847.5 m acima do nível do mar, com temperatura máxima de 27,3°C e mínima de 16,0°C. O município de Guaraciaba do Norte está situado a uma latitude de 4°10'S, longitude 40°44'W e uma altitude média de 902.4 m acima do nível do mar, com temperatura máxima de 26,6°C e mínima de 15,6°C. A identificação prévia dos parasitoides foi feita pelo *D. Sc.* Fabricio Fagundes Pereira e ratificada/confirmada pela *D. Sc.* Ranyse Barbosa Querino da Silva.

Para a condução do experimento foram utilizados ovos das espécies A. kuehniella, N. elegantalis e S. frugiperda nas densidades 10, 20, 30, 40 ou 50 ovos de cada hospedeiro com até 24 horas de idade. Com o auxílio de um pincel umedecido, os ovos de cada hospedeiro foram colados em cartelas de cartolina azul celeste  $(8,0 \times 2,5 \text{ cm})$  usando goma arábica (30%). As cartelas foram inseridas em tubos de vidro  $(8,5 \times 2,5 \text{ cm})$  e logo após foram liberadas 1, 3, 6 ou 9 fêmeas de T. pretiosum de cada linhagem, separadamente, com idade até 24 horas, para cada densidade de ovos. As fêmeas parasitoides foram alimentadas com uma gotícula de mel puro colocada na parede do tubo e, este fechado com filme plástico  $PVC^{\otimes}$  para evitar a fuga dos parasitoides. Os ovos foram expostos ao parasitismo por 24 horas, em condições controladas  $(25 \pm 2^{\circ}C, 70 \pm 10\%)$  e fotoperíodo de 12 horas). Após esse período, as cartelas foram transferidas para novos tubos de vidro  $(8,5 \times 2,5 \text{ cm})$  e os mesmos fechados e acondicionados em laboratório nas mesmas condições controladas, permanecendo até a emergência da geração seguinte dos parasitoides.

Os ovos de *A. kuehniella*, bem como os de *S. frugiperda* foram inviabilizados pela exposição à lâmpada germicida pelo período de 40 e 50 minutos, respectivamente, devido a estas espécies apresentarem habito canibal. Ovos de *N. elegantalis* não foram submetidos a esse processo.

A porcentagem de parasitismo [(Número de ovos parasitados/número total de ovos) x 100] e a porcentagem de emergência [(Número de ovos escuros com orifício /número total de ovos parasitados) x 100] foram os parâmetros avaliados.

Os experimentos foram implantados em delineamento experimental inteiramente casualizado, esquema fatorial 2x5x4 (linhagens de *T. pretiosum*, densidades de ovos do hospedeiro e densidades de fêmeas do parasitoide, respectivamente) e 12 repetições.

Os dados foram submetidos à análise de regressão escolhendo-se os modelos baseando-se no coeficiente de determinação ( $R^2$ ), na significância dos coeficientes de regressão pelo teste F (até 5% de probabilidade) e pelo melhor ajuste às características dos dados. Os valores de máxima, ou seja, correspondentes à melhor densidade (parasitoide/hospedeiro) foram determinados pela primeira derivada das equações do tipo paraboloide [ $f=y_0+a*x+b*y+c*x^2+d*y^2$  em que y=progênie de T. pretiosum por ovo; a;c=densidade de ovos e b;d= densidade de fêmeas parasitoides].

### **3 RESULTADOS**

O parasitismo de *T. pretiosum* linhagem Ubajara, independentemente da densidade de ovos de *A. kuehniella* aumentou, até certo ponto, com o aumento da densidade de fêmeas e atingiu a maior percentagem (79,1%) na densidade de 6,5 fêmeas do parasitoide e 23,2 ovos do hospedeiro (Figura 1A). Para o hospedeiro *N. elegantalis* observou-se porcentagem mínima de 43,1%, e a máxima (70%) foi obtida na densidade de 7,8 fêmeas do parasitoide e 21,9 ovos do hospedeiro (Figura 1B). Para *S. frugiperda* a densidade 7,0 fêmeas de *T. pretiosum* e 28,2 ovos do hospedeiro proporcionou maior porcentagem de parasitismo (60,6%) (Figura 1C).

O percentual de emergência da progênie da linhagem Ubajara esteve sempre acima de 80% e atingiu o ponto máximo (97,4%) na combinação de 4,3 fêmeas e 25,9 ovos de *A. Kuehniella* (Figura 2A). Para *N. elegantalis* a porcentagem mínima foi de 67,33%, e a densidade de 4,2 fêmeas e 23,0 ovos de *N. elegantalis* proporcionou porcentagem máxima de emergência de 85,6% (Figura 2B) enquanto a porcentagem mímina em ovos de *S. frugiperda* 

foi de 42,0% na densidade de 9 fêmeas para 10 ovos, e a densidade de 5,6 fêmeas do parasitoide e 44,1 ovos de *S. frugiperda* atingiu 92,8% de emergência (Figura 2C).

O percentual máximo de parasitismo da linhagem Guaraciaba em ovos de *A. kuehniella* foi de 99,9% na densidade de 6,9 fêmeas do parasitoide e 35,1 ovos do hospedeiro (Figura 3A). A densidade 7,1 fêmeas do parasitoide e 41,4 ovos de *N. elegantalis* permitiu a obtenção da taxa máxima (100%) de parasitismo (Figura 3B). Obteve-se 92,7% de parasitismo quando utilizou-se 6,3 fêmeas do inimigo natural e 13 ovos do hospedeiro *S. frugiperda* (Figura 3C).

Observou-se porcentagem mínima de emergência de 86,4% dos parasitoides provenientes da linhagem Guaraciaba. A densidade de 7,3 fêmeas e 26,4 ovos de *A. Kuehniella* proporciounou 94,0% de emergência (Figura 4A). Para o hospedeiro *N. elegantalis*, a porcentagem máxima (98,7%) foi obtida na densidade 3,3 fêmeas do parasitoide e 40,1 ovos (Figura 4B). O percentual de emergência de *T. pretiosum* linhagem Guaraciaba atingiu 98,5% com 4,5 fêmeas e 10,8 ovos de *S. frugiperda* (Figura 4C).

Figura 1. Parasitismo (%) de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) linhagem Ubajara-CE em ovos de: A) *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae); B) *Neoleucinodes elegantalis* (Lepidoptera: Crambidae) e; C) *Spodoptera frugipera* (Lepidoptera: Noctuidae) em função da densidade de fêmeas do parasitoide e dos ovos dos hospedeiros

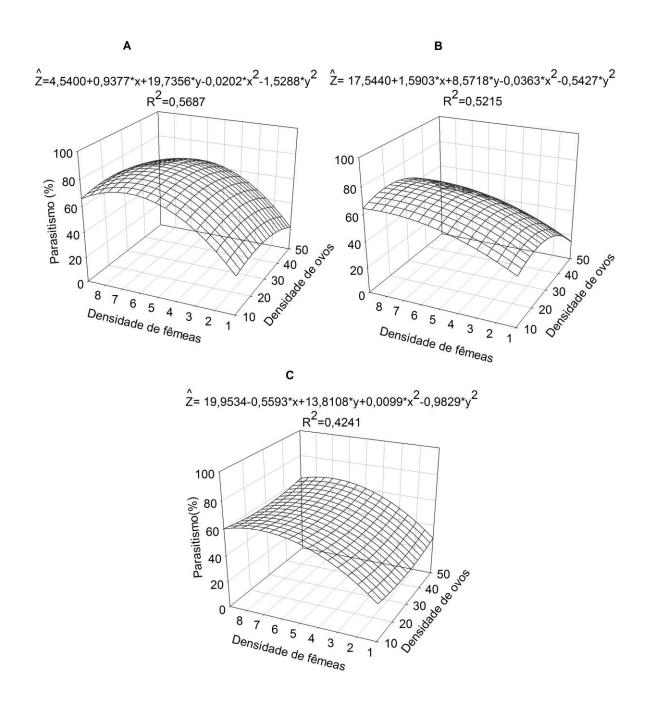


Figura 2. Emergência (%) de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) linhagem Ubajara-CE de ovos de: A) *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae); B) *Neoleucinodes elegantalis* (Lepidoptera: Crambidae) e; C) *Spodoptera frugipera* (Lepidoptera: Noctuidae) em função da densidade de fêmeas do parasitoide e dos ovos dos hospedeiros



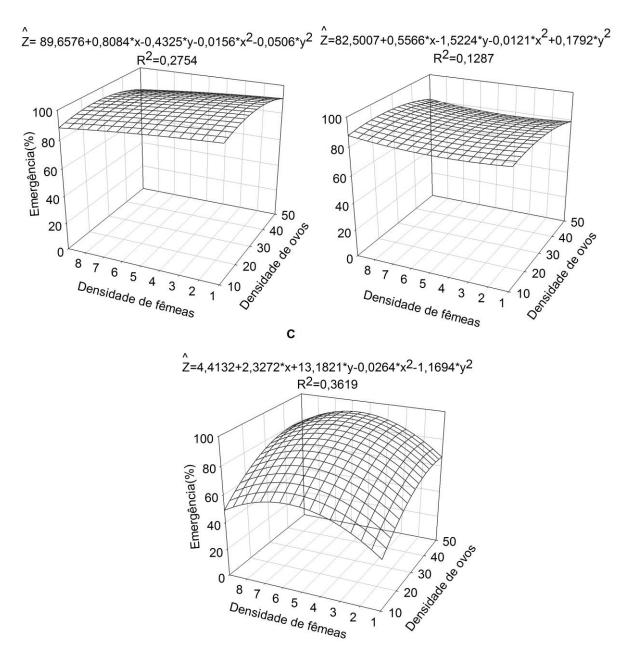


Figura 3. Parasitismo (%) de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) linhagem Guaraciaba-CE em ovos de: A) *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae); B) *Neoleucinodes elegantalis* (Lepidoptera: Crambidae) e; C) *Spodoptera frugipera* (Lepidoptera: Noctuidae) em função da densidade de fêmeas do parasitoide e dos ovos dos hospedeiros

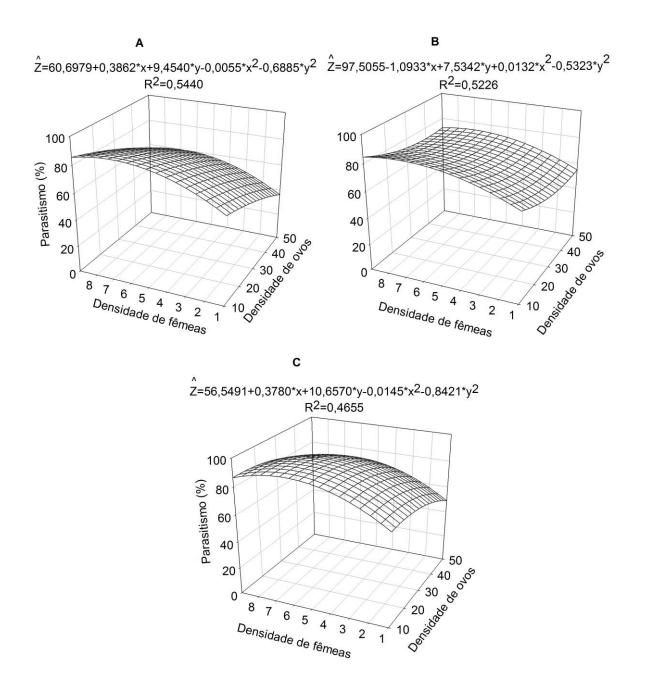
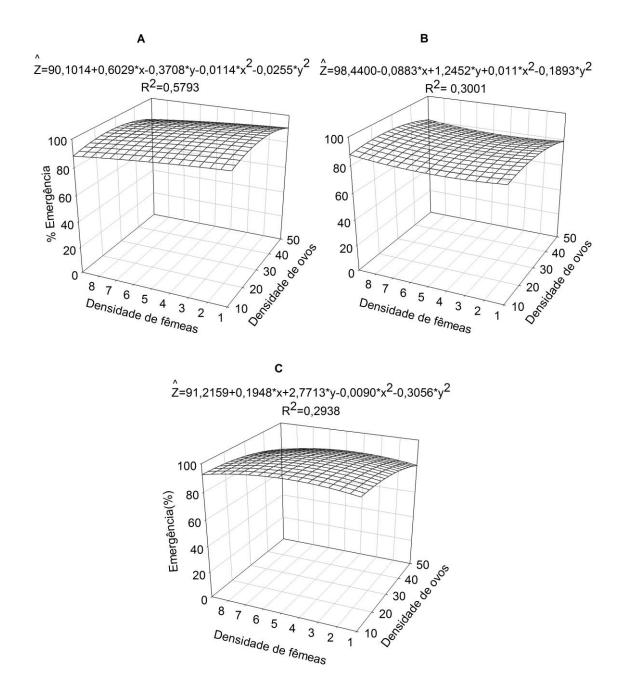


Figura 4. Emergência (%) de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) linhagem Guaraciaba-CE em ovos de: A) *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae); B) *Neoleucinodes elegantalis* (Lepidoptera: Crambidae) e; C) *Spodoptera frugipera* (Lepidoptera: Noctuidae) em função da densidade de fêmeas do parasitoide e dos ovos dos hospedeiros



# 4 DISCUSSÃO

Trichogramma pretiosum linhagem Ubajara apresentou menores percentuais de parasitismo quando comparado a linhagem Guaraciaba. A proporção ideal de parasitoides por hospedeiro promove o equilíbrio do número e da qualidade dos inimigos naturais produzidos, o que é atribuído à devida exploração dos recursos nutricionais dos hospedeiros para o desenvolvimento dos mesmos (PEREIRA et al., 2010). A utilização de quantidades de parasitoides acima do suportado pelo hospedeiro pode acarretar rápida redução dos recursos nutricionais em consequência do superparasitismo e, por outro lado, baixas quantidades de fêmeas parasitoides beneficiam a defesa do hospedeiro, uma vez que, pode haver encapsulação do ovo do parasitoide (ANDRADE et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2018).

O superparasitismo é caracterizado pela oviposição de um ou mais ovos em um hospedeiro já parasitado por um inseto da mesma espécie. Essa característica afeta diretamente parâmetros biológicos dos insetos, causando, na maioria dos casos, desenvolvimento mais lento e redução nas taxas de parasitismo. Em condições de alta densidade de fêmeas de parasitoides e baixa de ovos do hospedeiro, visando perpetuar a progênie, é mais vantajoso para a mesma, 'tentar' a competição com o primeiro ocupante do hospedeiro, que procurar outro hospedeiro. Essa condição aumenta a probabilidade da ocorrência do superparasitismo (CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO, 1995; BRODEUR & BOIVIN, 2004; BARBOSA *et al.*, 2008; ZACHÉ, 2012; PEREIRA *et al.*, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2018).

Diversos estudos têm demonstrado resultados que apontam a utilização de diferentes densidades de *T. pretiosum* e dos hospedeiros avaliados no presente estudo, visando obtenção de altas taxas de parasitismo. O parasitismo de *T. pretiosum* reduziu com o aumento da densidade de ovos de *A. kuehniella* (ZART *et al.*, 2012). Os melhores percentuais de parasitismo foram obtidos na densidade de uma fêmea de *T. pretiosum* exposta a 15 (77,3%) e 35 (78,8%) ovos de *N. elegantalis* (OLIVEIRA, 2013). As maiores porcentagens de parasitismo de *T. pretiosum* foram obtidas nas densidades de uma fêmea por 20, 25 e 30 ovos de *S. frugiperda* (PRATISSOLI *et al.*, 2005).

Para as duas linhagens de *Trichogramma* estudadas, ficou evidente que o percentual de emergência dos descendentes apresentou variações significativas em função das diferentes densidades de ovos dos insetos-hospedeiros. O número ideal de fêmeas parasitoides por hospedeiro pode permitir altas taxas de emergência de descendentes, fato esse importante para o sucesso no estabelecimento de programas de controle biológico, obtendo-se resultados

adequados para o controle do inseto-praga (BUENO *et al.*, 2009). Alguns estudos apontam como resultado que a utilização de maiores densidades de fêmeas parasitoides resulta na diminuição da porcentagem de emergência da progênie (BARBOSA *et al.*, 2008; CANDELÁRIA, 2013). Este fato está relacionado com o limite de capacidade do hospedeiro em suportar os ovos, e consequentemente as larvas do parasitoide, uma vez que, o alimento é o principal fator que determina o número de insetos. A fase larval necessita de alimento visando à obtenção de quantidades suficientes de nutrientes para que não ocorra interferência na aptidão do adulto e, consequentemente, na perpetuação da espécie (MUELLER *et al.*, 2005).

Alguns estudos encontraram resultados que comprovam a influência da densidade parasitoide/hospedeiro na porcentagem de emergência de espécies de *Trichogramma*. A porcentagem de emergência de *T. pretiosum* foi maior na densidade de uma fêmea por 55 ovos de *N. elegantalis* (OLIVEIRA, 2013). Para as espécies *T. pretiosum* e *T. maxacalii* Voegelé & Pointel (Hymenoptera: Trichogrammatidae), o percentual de emergência dos descendentes aumentou em densidades superiores a uma fêmea por 15 ovos de *S. frugiperda* (PRATISSOLI *et al.*, 2005).

De uma maneira geral, *T. pretiosum* linhagem Guaraciaba apresentou atividade superior à linhagem Ubajara quanto às taxas de parasitismo e de emergência. Uma das explicações para o melhor desempenho biológico talvez esteja relacionado ao tempo de manutenção/permanência das gerações das linhagens em laboratório. A linhagem Ubajara foi coletada em 2015 e a linhagem Guaraciaba em 2016. Pode ocorrer uma diminuição na preferência por determinados hospedeiros quando *Trichogramma* spp. é criado por várias gerações em laboratório (WÜHRER & HASSAN, 1993), e apesar da maioria dos trabalhos fundamentarem essa teoria (GONÇALVES *et al.*, 2003; SILVA JÚNIOR, 2009), alguns autores comprovam o contrário (PARRA, 1997; NORDLUND *et al.*, 1997) e outros ainda relatam que não foram verificadas diferenças na atividade do parasitoide ao longo das gerações (VOLPE *et al.*, 2006; BESERRA & PARRA, 2004). O monitoramento das gerações permite compreender a influência das mesmas sobre os parâmetros biológicos, e possibilita ainda verificar se uma população de parasitoides pode se adaptar ao longo do tempo a um hospedeiro de baixa qualidade inicial (VAN LENTEREN, 2003; BERTIN *et al.*, 2017).

Os dados obtidos no presente estudo são relevantes, pois indicam a capacidade das linhagens de *T. pretiosum* de regular a densidade dos hospedeiros. Os dados obtidos serão aplicados em criações massais dos parasitoides, e experimentos de laboratório visando também a obtenção de outros parâmetros que beneficiem a atividade dos parasitoides.

# **5 CONCLUSÕES**

As maiores taxas de parasitismo, para todos os hospedeiros, foram observadas quando utilizada a linhagem Guaraciaba-CE.

As densidades de 4,3 fêmeas e 25,9 ovos de *A. kuehniella*, 4,2 fêmeas e 23 ovos de *N. elegantalis* e 5,6 fêmeas e 44,1 ovos de *S frugiperda* proporcionaram maior percentual de emergência para a linhagem Ubajara-CE.

As maiores taxas de emergência de *T. pretiosum* linhagem Guaraciaba-CE foram obtidas nas densidades de 7,3 fêmeas do parasitoide e 26,4 ovos de A. *kuehniella*, 3,3 fêmeas e 40,1 ovos de *N. elegantalis* e 4,5 fêmeas do inimigo natural e 10,8 ovos de *S. frugiperda*.

# REFERÊNCIAS

- ANDRADE, G. S.; SERRAO, J. E.; ZANUNCIO, J. C.; ZANUNCIO, T. V.; LEITE, G. L. D.; POLANCZYK, R. A. Immunity of an alternative host can be overcome by higher densities of its parasitoids *Palmistichus elaeisis* and *Trichospilus diatraeae*. **Plos One**, v.5, p. 1-7, 2010
- BARBOSA, L. S.; COURI, M. S.; COELHO, V. M. A. Desenvolvimento de *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas de *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775) (Diptera: Calliphoridae), utilizando diferentes densidades do parasitoide. **Biota Neotropica**, v. 8, p. 49-54, 2008.
- BERTIN, A.; PAVINATO, V. A. C.; PARRA; J. R. P. Fitness-related changes in laboratory populations of the egg parasitoid *Trichogramma galloi* and the implications of rearing on factitious hosts. **BioControl**, v. 62, p. 435-444, 2017.
- BESERRA, E. B.; PARRA, J. R. P. Biologia e parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Plantner e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 48, p. 119-126, 2004.
- BUENO, R. C. O. F.; PARRA, J. R. P.; BUENO, A. F.; HADDAD, M. L. Desempenho de tricogramatídeos como potenciais agentes de controle de *Pseudoplusia includens* Walker (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, v. 38, p. 389-394, 2009.
- BRODEUR, J.; BOIVIN, G. Functional ecology of immature parasitoids. **Annual Review of Entomology**, v. 49, p. 27-49, 2004.
- CANDELÁRIA, M. C. 2013. *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae): Densidade e idade do parasitoide e do hospedeiro alternativo e dispersão em plantação de eucalipto. 84 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, 2013.
- CARDOSO, D.; MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V. Influência da densidade de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) sobre a capacidade reprodutiva de fêmeas nulíparas de *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 39, p. 779-786, 1995.
- GONÇALVES, J. R.; HOLTZ, A. M.; PRATISSOLI, D.; GUEDES, R. N. C. Avaliação da qualidade de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 25, p. 485-489, 2003.
- HASSAN, S. A. Strategies to select *Trichogramma* species for use in biological control. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S. A. (Ed.). **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: Oxford University, cap. 3, p. 55-71, 1994.
- MAGALHÃES, G. O.; GOULART, R. M.; VACARI, A. M.; BORTOLI, S. A. Parasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em diferentes

- hospedeiros e cores de cartelas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 79, p. 55-60, 2012.
- MUELLER, L. D.; FOLK, D. G.; NGUYEN, N.; NGUYEN, P.; LAM, P.; ROSE, M. R.; BRADLEY, T. Evolution of larval foraging behavior in *Drosophila* and its effects on growth and metabolic rates. **Physiological Entomology**, v. 30, p. 262-269, 2005.
- NORDLUND, D. A.; WU, Z. X.; GREENBERG, S.M 1997. In vitro rearing of *Trichogramma minutum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) for ten generations, with quality assessment comparions of "in vitro" and "in vivo" reared adults. **Biological Control**, v. 9, p. 201-207, 1997.
- OLIVEIRA, C. M. 2013. **Efeito da densidade e da idade de ovos de** *Neoleucinodes elegantalis* (**Guenée**) (**Lepidoptera:Crambidae**) **sobre parâmetros biológicos e exigências térmicas de** *Trichogramma pretiosum* (**Hymenoptera:Trichogrammatidae**). 66 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2013.
- OLIVEIRA, F. A. L.; SILVA, R. O.; OLIVEIRA, N. R. X.; ANDRADE, G. S.; PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; COUTINHO, C. R.; PASTORI, P. L. Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) with different densities and parasitism periods in *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) pupae. **Folia Biologica** (**Kraków**), v. 66, p. 103-110, 2018.
- PARRA, J. R. P. **Técnicas de criação de** *Anagasta kuehniella*, **hospedeiro alternativo para produção de** *Trichogramma*. In: PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (eds.). *Trichogramma* e o controle biológico aplicado. Piracicaba. FEALQ, p. 121-150. 324 p., 1997.
- PARRA, J. R. P. Biological control in Brazil: An overview. **Scientia Agricola**, v. 71, p. 420-429, 2014.
- PARRA, J. R. P.; CÔNSOLI, F. L. Criação massal e controle de qualidade de parasitoides de ovos. In: BUENO, V. H. P. **Controle biológico de pragas: Produção massal e controle de qualidade**. Lavras: Editora UFLA, p. 169-197, 2009.
- PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; SERRAO, J. E.; ZANUNCIO, T. V.; PRATISSOLI, D.; PASTORI, P. L. The density of females of *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 82, p. 323-331, 2010.
- PEREIRA, K. D., GUEDES, N. M. P., SERRAO, J. E., ZANUNCIO, J. C., GUEDES, R. N. C. Superparasitism, immune response and optimum progeny yield in the gregarious parasitoid *Palmistichus elaeisis*. **Pest Management Science**, v. 73, p. 1101-1109, 2017.
- PRATISSOLI, D., VIANNA, U. R.; REIS, E. F.; ANDRADE, G. S.; SILVA, A. F. Influência da densidade de ovos de *Spodoptera frugiperda* em alguns aspectos biológicos de três espécies de *Trichogramma*. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 4, p. 1-7, 2005.
- SAGARRA, L. A.; PETERKIN, D. D.; VINCENT, C.; STEWART, R. K. Immune response of the hibiscus mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* Green (Homoptera: Pseudococcidae), to

- oviposition of the parasitoid *Anagyrus kamali* Moursi (Hymenoptera: Encyrtidae). **Journal of Insect Physiology**, v. 46, p. 47-653, 2000.
- VAN LENTEREN, J. C. Quality control and production of biological control agentes: theory and testing procedures. Wallingford: CABI, 327 p., 2003.
- SILVA JÚNIOR, R. J. 2009. Capacidade de parasitismo e de desenvolvimento de três espécies de *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Condylorrhiza vestigialis* (Lepidoptera: Crambidae). 102 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.
- SIQUEIRA, J. R.; BUENO, R. C. O. F.; BUENO, A. F.; VIEIRA, S. S. Preferência hospedeira do parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum*. **Ciência Rural**, v. 42, p. 1-5, 2012.
- VARGAS, E. L.; PEREIRA, F. F.; CALADO, V. R. F.; GLAESER, D. F.; RODRIGUES, B. A. C.; SILVA, N. V. Densidade de fêmeas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) por pupa de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Sitientibus série Ciências Biológicas**, v. 13, p. 1-7, 2014.
- VOLPE, H. X. L.; BORTOLI, S.A.; THULER, R. T.; VIANA, C. L. T. P.; GOULART. R. M. Avaliação de características biológicas de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) criado em três hospedeiros. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, p. 311-315, 2006.
- VREYSEN, M. J. B.; ROBINSON, A. S. Ionising radiation and area-wide management of insect pests to promote sustainable agriculture: A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 1, p. 1-18, 2010.
- WAJNBERG, E. Genetics of the behavioral ecology of egg parasitoids. In: CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on** *Trichogramma*. Dordrecht: Springer, p. 150-159, 2010.
- WÜHRER, B. G.; HASSAN, S. A. 1993. Selection of effective species/strains of *Trcihogramma* (Hym., Trichogrammatidae) to control the diamondback moth *Plutella xylostella* L. (Lep., Plutellidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 116, p 80-89, 1993.
- ZACHÉ, B. 2012. **Técnicas de criação em laboratório e dispersão do parasitoide de pupas** *Trichospilus diatraeae* (**Hymenoptera: Eulophidae**) **no campo**. 123 p. Tese (Doutorado em Agronomia) Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2012.
- ZART, M.; BERNARDI, O.; NUNES, A. M.; ANDERSSON, F. S.; MANFREDI-COIMBRA, S.; BUSATO, G. R.; GARCIA, M. S. Influência do fotoperíodo sobre aspectos biológicos e parasitismo de ovos de *Anagasta kuenhiella* (Lepidoptera: Pyralidae) por *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera, Trichogrammatidae). **EntomoBrasilis**, v. 5, p. 115-119, 2012.
- ZUCCHI, R. A.; QUERINO, R. B.; MONTEIRO, R. C. Diversity and hosts of *Trichogramma* in the New World, with emphasis in South America. In: CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P.;

ZUCCHI, R. A. (Org.). **Egg parasitoids in Agroecosystems with emphasis on** *Trichogramma*. Dordrecht: Springer, cap 8, p. 219-236, 2010.

# 3 CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DE LINHAGENS DE *Trichogramma pretiosum* (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) EM DIFERENTES DENSIDADES DE OVOS DE INSETOS-HOSPEDEIROS

#### **RESUMO**

É fundamental a utilização de inimigos naturais adaptados para as condições da região onde se coletou a espécie e pretende-se reintroduzí-la, bem como o estudo da densidade ideal de parasitoides a ser utilizada em relação ao hospedeiro. Objetivou-se, com este estudo, avaliar a reprodução de linhagens locais de T. pretiosum expostas a ovos de Anagasta kuehniella Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), Neoleucinodes elegantalis Guenée (Lepidoptera: Crambidae) e Spodoptera frugiperda J E Smith (Lepidoptera: Noctuidae), em função da densidade de fêmeas do parasitoide e ovos dos hospedeiros. Foram utilizadas 1, 3, 6 ou 9 fêmeas de T. pretiosum linhagens Ubajara-CE e Guaraciaba-CE com até 24 horas de idade para 10, 20, 30, 40 ou 50 ovos de cada hospedeiro com até 24 horas de desenvolvimento embrionário. O número de parasitoides emergidos por ovo [(Número de parasitoides emergidos/número total de ovos parasitados); a razão sexual [Número de fêmeas emergidas/ (número de fêmeas + machos)], a longevidade (dias) e a duração do ciclo (ovo-adulto) foram os parâmetros avaliados. Os experimentos foram implantados em delineamento experimental inteiramente casualizado, esquema fatorial 2x5x4 com duas linhagens de T. pretiosum, cinco densidades do hospedeiro e quatro densidades de fêmeas com 12 repetições. Os dados foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Duncan (p ≤0,05). As densidades parasitoide/hospedeiro de 6:10 e 3:10 A. kuehniella, 6:20 e 6:10 N. elegantalis, 9:50 e 9:20 S. frugiperda nas linhagens Ubajara e Guaraciaba, respectivamente, apresentaram resultados favoráveis no que se refere à reprodução das linhagens.

**Palavras-chave:** Parasitoide de ovos. Produção massal. Linhagens adaptadas. Controle biológico.

#### **ABSTRACT**

It is essential to use natural enemies adapted to the conditions of the region where the species was collected and it is intended to reintroduce it, as well as the study of the ideal density of parasitoid to be used in relation to the host. The objective of this study was to evaluate the reproduction of local lineages of Trichogramma pretiosum Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) exposed to Anagasta kuehniella Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), Neoleucinodes elegantalis Guenée (Lepidoptera: Crambidae) and Spodoptera frugiperda JE Smith (Lepidoptera: Noctuidae) as a function of the density of females of the parasitoid and eggs of the hosts. 1, 3, 6 or 9 females of T. pretiosum Ubajara-CE and Guaraciaba-CE lineages with up to 24 hours of age were used for 10, 20, 30, 40 or 50 eggs of each host with up to 24 hours of embryonic development. The number of parasitoids emerged per egg [(Number of parasitoids emerged / total number of parasitized eggs); the sex ratio [Number of emerged females / (number of females + males)], longevity (days) and cycle duration (eggadult) were the parameters evaluated. The experiments were implemented in a completely randomized experimental design, 2x5x4 factorial scheme with two lineages of T. pretiosum, five densities of the host and four densities of females with 12 replications. Data were submitted to ANOVA and means were compared by the Duncan test (p  $\leq$ 0.05). The parasitoid / host densities of 6:10 and 3:10 A. kuehniella, 6:20 and 6:10 N. elegantalis, 9:50 and 9:20 S. frugiperda in the Ubajara and Guaraciaba lineages, respectively, presented favorable results in the which refers to the reproduction of the lineages.

**Keywords:** Parasitoids of eggs. Mass production. Adapted lineages. Biological control.

# 1 INTRODUÇÃO

No Brasil, os parasitoides de ovos do gênero *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) estão associados a uma vasta gama de hospedeiros e, sua eficiência já foi comprovada na supressão de diversos lepidópteros-praga (PARRA, 2014). Esses inimigos naturais são aptos para o controle desse grupo de artrópodes-praga, pois ovipositam na fase de ovo do hospedeiro, impedindo a emergência das lagartas e consequentemente dos danos causados por estas. O parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) é a espécie mais amplamente distribuída, sendo encontrada parasitando ovos de mais de 200 espécies de insetos (WAJNBERG, 2010; JALALI, 2013).

Para que esses parasitoides possam ser efetivamente utilizados no controle de pragas, existe a necessidade de multiplica-los em larga escala (PARRA & CÔNSOLI, 2009). A escolha do hospedeiro é crucial na multiplicação de parasitoides, uma vez que, suas caracteristicas físico-químicas podem afetar a aceitação e adaptação das espécies e/ou linhagens, interferindo dessa forma nas características biológicas, prejudicando a qualidade do parasitoide produzido e sua atuação no campo (MAGALHÃES *et al.*, 2012; SIQUEIRA *et al.*, 2012). Assim, o hospedeiro para criação massal deve apresentar baixo custo de produção em larga escala e não afetar negativamente a eficiência de controle do parasitoide (CANDELÁRIA, 2013).

Parasitoides de ovos possuem estratégias que potencializam a busca e a seleção de hospedeiros para que o encontro dos mesmos ocorra no menor tempo possível (AQUINO, 2011). Uma vez que os hospedeiros são localizados, os mesmos podem ser explorados por parasitoides em diferentes proporções, em razão da densidade, tempo de exposição e distribuição no ambiente (BARBOSA et al. 2008; PARANHOS et al., 2008; PASTORI et al., 2012). Portanto é importante o conhecimento da densidade parasitoide/hospedeiro para obtenção da máxima eficiência de *Trichogramma* spp. em condições de laboratório e de campo (ZART et al., 2012; VARGAS et al., 2014).

A proporção de parasitoides liberados em campo e a relação da densidade de ovos do hospedeiro é um fator importante para o sucesso do inimigo natural. A eficiência dos mesmos pode reduzir em função da competição intra-específica, posto que, à medida que se aumenta a densidade de parasitoides, haverá redução da probabilidade do inimigo natural encontrar um ovo não-parasitado, aumentando, dessa forma, as chances de ocorrer superparasitismo (NEIL & SPECHT, 1990). A densidade de parasitoides por hospedeiro afeta características como razão sexual da prole (VARGAS *et al.*, 2014), duração do ciclo de vida

(PEREIRA *et al.*, 2010), número de parasitoides emergidos por hospedeiro (MOLINA, 2003), longevidade e duração do ciclo (ZART *et al.*, 2012).

Além do estudo da densidade parasitoide/hospedeiro é fundamental a utilização de inimigos naturais adaptados para as condições da região de estudo, uma vez que, o parasitoide é sensível ao ambiente e nem sempre será capaz de demonstrar a mesma eficiência em condições climáticas diferentes da região de origem (PINTO & PARRA, 2002). Parasitoides *Trichogramma* spp. apresentam variação quanto ao comportamento de busca, preferência hospedeira e respostas às condições ambientais em função da espécie ou mesmo em função de linhagens da mesma espécie (PASTORI *et al.*, 2008; SIQUEIRA *et al.*, 2012).

Nesse contexto, objetivou-se com este estudo, avaliar a reprodução de linhagens locais de *T. pretiosum* expostas a ovos *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), *Neoleucinodes elegantalis* Guenée (Lepidoptera: Crambidae) e *Spodoptera frugiperda* J E Smith (Lepidoptera: Noctuidae) em função da densidade de fêmeas do parasitoide e de ovos dos hospedeiros.

#### 2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Entomologia Aplicada (LEA) da Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, Ceará. Foram utilizadas duas linhagens (Ubajara-CE e Guaraciaba-CE) de *T. pretiosum* coletadas naturalmente parasitando ovos de *N. elegantalis* em frutos de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) em áreas comerciais na região da Serra da Ibiapaba, Ceará. A primeira linhagem foi coletada na zona rural do município de Ubajara, em condições de cultivo de tomateiro no sistema convencional e a segunda no município de Guaraciaba do Norte, em condições de cultivo de tomateiro no sistema orgânico. O município de Ubjara está situado a uma latitude de 3°51'S, longitude 40°55'W e uma altitude média de 847.5 m acima do nível do mar, com temperatura máxima de 27,3°C e mínima de 16,0°C. O município de Guaraciaba do Norte está situado a uma latitude de 4°10'S, longitude 40°44'W e uma altitude média de 902.4 m acima do nível do mar, com temperatura máxima de 26,6°C e mínima de 15,6°C. A identificação prévia dos parasitoides foi feita pelo *D. Sc.* Fabricio Fagundes Pereira e ratificada/confirmada pela *D. Sc.* Ranyse Barbosa Querino da Silva.

Para a condução do experimento foram utilizados ovos das espécies *A. kuehniella*, *N. elegantalis* e *S. frugiperda* nas densidades de 10, 20, 30, 40 ou 50 ovos de cada hospedeiro com até 24 horas de desenvolvimento embrionário. Com o auxílio de um pincel umedecido,

os ovos de cada hospedeiro foram colados em cartelas de cartolina azul celeste (8,0 x 2,0 cm) usando goma arábica (30%). As cartelas foram inseridas em tubos de vidro (8,5 x 2,5 cm) e logo após foram liberadas 1, 3, 6 ou 9 fêmeas de T. pretiosum de cada linhagem separadamente com idade até 24 horas, para cada densidade de ovos. As fêmeas parasitoides foram alimentadas com uma gotícula de mel puro colocada na parede dos tubos. Os tubos foram fechados com filme plástico  $PVC^{\otimes}$  para evitar a fuga dos parasitoides. Os ovos foram expostos ao parasitismo por 24 horas e, após esse período, as cartelas foram transferidas para novos tubos de vidro (8,5 x 2,5 cm) e acondicionados a  $25 \pm 2^{\circ}C$ , umidade relativa  $70 \pm 10\%$  e fotoperíodo de 12 horas, permanecendo até a emergência da geração seguinte dos parasitoides.

Os ovos de *A. kuehniella*, bem como os de *S. frugiperda* foram inviabilizados pela exposição à lâmpada germicida pelo período de 40 e 50 minutos, respectivamente, devido a estas espécies apresentarem habito canibal Ovos de *N. elegantalis* não foram submetidos a esse processo.

O número de parasitoides emergidos por ovo [(Número de parasitoides emergidos/número total de ovos parasitados); a razão sexual [Número de fêmeas emergidas/(Número de fêmeas + machos)]; a longevidade de fêmeas e de machos (dias) e a duração do ciclo (ovo-adulto) foram os parâmetros avaliados.

Os experimentos foram implantados em delineamento experimental inteiramente casualizado, esquema fatorial 2x5x4, com duas linhagens de *T. pretiosum*, cinco densidades do hospedeiro e quatro densidades de fêmeas parasitoides, com 12 repetições. Os dados foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Duncan ( $p \le 0.05$ ).

#### **3 RESULTADOS**

Para *T. pretiosum* linhagem Ubajara verificou-se emergência de mais de um parasitoide emergido por ovo, nas densidades de 3:10 (1,02), 6:10 (1,26), 9:10 (1,12), 3:20 (1,13) e 6:20 (1,20) fêmeas do parasitoide/ovos de *A. kuehniella* (Tabela 1). Para a linhagem proveniente de Guaraciaba, as densidades de parasitoide/hospedeiro utilizadas influenciaram o número de parasitoides que emergiram por ovo, no qual a densidade de 3:10 proporcionou a emergência de 2,10 parasitoides/ovo (Tabela 2).

O número de parasitoides emergidos por ovo de *N. elegantalis* foi de 1,03 para linhagem Ubajara na densidade 6:20 (Tabela 3). Para Guaraciaba foi obtido 1,12

parasitoides/ovo utilizando-se 6 fêmeas e 10 ovos, não diferindo das demais densidades, que apresentaram média de 1,0 parasitoide/ovo (Tabela 4).

Os parasitoides provenientes da linhagem Ubajara proporcionaram a emergência de 2,07 parasitoides/ovo na razão de 9:50 no hospedeiro *S. frugiperda* (Tabela 5). A linhagem Guaraciaba possibilitou obtenção de 1,56 parasitoides/ovo na densidade 9:20 (Tabela 6).

A razão sexual é outro fator influenciado pela densidade de parasitoide/hospedeiro. A densidade de 9 fêmeas e 10 ovos de *A. kuehniella* proporcionou razão sexual de 0,91 para a linhagem Ubajara (Tabela 1). Na linhagem Guaraciaba verificouse razão sexual acima de 0,50 nos hospedeiros *A. kuehniella* e *S. frugiperda* em todas as densidades utilizadas (Tabelas 2 e 6). A razão sexual variou de 0,43 (1:30) a 0,74 (6:50) para os testes realizados com o parasitoide proveniente da região Ubajara em ovos de *N. elegantalis* (Tabela 3).

Constatou-se razão sexual de 0,69 na linhagem Guaraciaba quando utilizou-se 1 fêmea para 10 ovos de *N. elegantalis* (Tabela 4). Obteve-se menor razão sexual 0,28 na densidade de 1 fêmea *T. pretiosum* linhagem Ubajara para 30 ovos de *S. frugiperda*. A maior razão sexual (0,79) foi observada na densidade de 6 fêmeas para 40 ovos, porém não diferiu da densidade de 6 fêmeas com as demais densidades de ovos (Tabela 5). Em suma verificou-se que, para a linhagem Ubajara, na densidade de 1 fêmea obteve-se as menores razões sexuais, nos três hospedeiros, nas diferentes densidades de ovos.

No que se refere à longevidade dos adultos de *T. pretiosum* em ovos de *A. kuehniella*, observou-se que para as fêmeas provenientes da linhagem Ubajara, a média variou de 2,75 dias nas densidades de 1:10 e 3:10 a 7,50 dias em 6:40. Nos machos verificou-se variação de 2,25 (1:50 e 9:50) a 5,25 dias (3:50) (Tabela 1). Na linhagem Guaraciaba, obteve-se a menor longevidade de fêmeas (2,75 dias) na densidade de 1:10, e maior (7,50 dias) na densidade 1:20. A menor longevidade dos machos (1,75 dias) provenientes de tal linhagem foi observada na densidade 9:50. Constatou-se longevidade de 4,75 dias para machos na densidade de 6 fêmeas *T. pretiosum* e 40 ovos de *A. kuehniella* (Tabela 2).

A longevidade de fêmeas foi de 6,75 dias na densidade 6 fêmeas linhagem Ubajara e 30 ovos de *N. elegantalis*. Verificou-se 4,75 dias de longevidade para machos da linhagem Guaraciaba na densidade 6:10 (Tabelas 3). A densidade de 1 fêmea da linhagem Guaraciaba e 50 ovos de *N. elegantalis* proporcionou para as fêmeas a longevidade de 7,25 dias e a densidade 6:30, longevidade de 4,25 dias para machos da linhagem Guaraciaba (Tabela 4).

Verificou-se longevidade de fêmeas de 5,25 dias na densidade 6:50 Ubajara/S. frugiperda, e para os machos não foram detectadas diferenças significativas (Tabela 5). A longevidade de fêmeas de *T. pretiosum* linhagem Guaraciaba foi de 6,75 dias na densidade 6 fêmeas do parasitoide para 10 ovos de *S. frugiperda*. Para os machos, obteve-se média de 4,50 dias (3:20), porém só houve diferença significativa entre o número de fêmeas utilizadas na densidade de 40 ovos do hospedeiro (Tabela 6).

A duração do ciclo de *T. pretiosum* proveniente das linhagens coletadas em Ubajara e Guaraciaba não foi afetada pelas densidades parasitoide/hospedeiro utilizadas. Verificou-se ciclo de 9 dias da fase de ovo ao adulto.

Tabela 1. Número de adultos emergidos por ovo (Médias ± erro padrão); Razão sexual (Médias ± erro padrão) e; Longevidade de fêmeas e de machos (Médias ± erro padrão) (Dias) de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) linhagem Ubajara por ovo de *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) em função da densidade de fêmeas do parasitoide e ovos do inseto-praga

	Fêmeas/ovo				
Densidade	1	3	6	9	
de ovos	Parasitoides/ovo				
10	$0,40 \pm 0,18 \text{ Bb}^1$	$1,02 \pm 0,12$ Aa	$1,26 \pm 0,08$ Aa	$1,12 \pm 0,06$ Aa	
20	$0.85 \pm 0.11 \text{ Ab}$	$1,13 \pm 005 \text{ Aa}$	$1,20 \pm 0,08 \text{ ABa}$	$0.95 \pm 0.09 \text{ ABa}$	
30	$0,41 \pm 0,14 \text{ Bb}$	$0.92 \pm 0.08 \text{ Aa}$	$1,02 \pm 0,02$ Ba	$0,40 \pm 0,18$ Ca	
40	$0.18 \pm 0.06 \; \text{Bc}$	$0.38 \pm 0.09 \text{ Bbc}$	$0,63 \pm 0,05$ Cab	$0.55 \pm 0.08  \mathrm{Ca}$	
50	$0.18 \pm 0.05 \; \mathrm{Bc}$	$0.32 \pm 0.08 \text{ Bbc}$	$0,68 \pm 0,07 \text{ Cab}$	$0,66 \pm 0,06 \text{ BCa}$	
	Razão sexual				
10	$0,24 \pm 0,11 \; \mathrm{Bc}$	$0,62 \pm 0,08 \text{ Ab}$	$0,77 \pm 0,04$ Aab	$0.91 \pm 0.03$ Aa	
20	$0,63 \pm 0,10 \text{ Aa}$	$0,66 \pm 0,06 \text{ Aa}$	$0,63 \pm 0,07 \text{ Aa}$	$0,59 \pm 0,09 \mathrm{Ca}$	
30	$0,23 \pm 0,09 \text{ Bb}$	$0.71 \pm 0.07 \text{ Aa}$	$0,67 \pm 0,03$ Aa	$0.82 \pm 0.03 \text{ ABa}$	
40	$0.38 \pm 0.10 \text{ Ac}$	$0.54 \pm 0.10 \text{ Abc}$	$0,72 \pm 0,03$ Aab	$0.78 \pm 0.03 \text{ ABa}$	
50	$0,40 \pm 0,12 \text{ Ab}$	$0,44 \pm 0,10 \text{ Ab}$	$0,75 \pm 0,02 \text{ Aa}$	$0,69 \pm 0,04 \text{ BCa}$	
	Longevidade de fêmeas (dias)				
10	$2,75 \pm 0,47 \text{ bB}$	$2,75 \pm 0,47 \text{ Ab}$	$6,25 \pm 1,31$ Aa	4,50 ± 1,04 Aab	
20	$3,25 \pm 0,85 \text{ ABa}$	$4,75 \pm 1,79 \text{ Aa}$	$6,25 \pm 0,75$ Aa	$5,00 \pm 0,81 \text{ Aa}$	
30	$6,25 \pm 1,60 \text{ Aa}$	$5,50 \pm 0,86$ Aa	$6,75 \pm 1,10 \text{ Aa}$	$6,25 \pm 1,10 \text{ Aa}$	
40	$6,25 \pm 1,10 \text{ Aa}$	$5,75 \pm 1,03$ Aa	$7,50 \pm 1,04$ Aa	$6,00 \pm 1,73 \text{ Aa}$	
50	$3,25 \pm 0,47 \text{ ABa}$	$5,25 \pm 1,70 \text{ Aa}$	$6,25 \pm 0,85$ Aa	$3,75 \pm 0,62 \text{ Aa}$	
	Longevidade de machos (dias)				
10	$2,75 \pm 0,47 \text{ Aa}$	$3,25 \pm 0,62 \text{ Ba}$	$4,25 \pm 1,60 \text{ Aa}$	$3,75 \pm 0,62 \text{ Aa}$	
20	$3,50 \pm 0,86 \text{ Aa}$	$3,75 \pm 0,85 \text{ Aba}$	$5,00 \pm 1,08 \text{ Aa}$	$3,50 \pm 1,19 \text{ Aa}$	
30	$2,50 \pm 0,50 \text{ Aa}$	$2,50 \pm 0,50 \text{ Ba}$	$2,50 \pm 0,28$ Aa	$3,00 \pm 0,70 \text{ Aa}$	
40	$3,25 \pm 0,94 \text{ Aa}$	$3,25 \pm 0,62 \text{ Aba}$	$4,75 \pm 1,49 \text{ Aa}$	$4,00 \pm 0,57 \text{ Aa}$	
50	$2,25 \pm 0,25 \text{ Ab}$	$5,25 \pm 1,10 \text{ Aa}$	$4,25 \pm 1,18$ Aab	$2,25 \pm 0,25 \text{ Ab}$	

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Médias seguidas por mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 2. Número de adultos emergidos por ovo (Médias  $\pm$  erro padrão); Razão sexual (Médias  $\pm$  erro padrão) e; Longevidade (Médias  $\pm$  erro padrão) (Dias) de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) linhagem Guaraciaba por ovo de *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) em função da densidade de fêmeas do parasitoide e ovos do inseto-praga

-	Fêmeas/ovo				
Densidade	1	3	6	9	
de ovos	Parasitoides/ovo				
10	$1,08 \pm 0,04 \text{ Ab}^1$	$2,10 \pm 0,81$ Aa	$1,08 \pm 0,03 \text{ Ab}$	$1,07 \pm 0,03 \text{ Ab}$	
20	$1,06 \pm 0,04$ Aa	$1,03 \pm 0,01 \text{ Ba}$	$1,13 \pm 0,06$ Aa	$1,12 \pm 0,06$ Aa	
30	$1,00 \pm 0,00 \text{ Ab}$	$1,00 \pm 0,00 \text{ Bb}$	$1,04 \pm 0,05$ Aab	$1,14 \pm 0,05 \text{ Aa}$	
40	$0.93 \pm 0.08 \text{ Ab}$	$1,07 \pm 0,03$ Bab	$1,12 \pm 0,05$ Aa	$1,09 \pm 0,02 \text{ Aab}$	
50	$1,05 \pm 0,04$ Aa	$0.97 \pm 0.03 \text{ Ba}$	$0.97 \pm 0.09 \text{ Aa}$	$1,08 \pm 0,16 \text{ Aa}$	
	Razão sexual				
10	$0.75 \pm 0.03$ Aab	$0.64 \pm 0.07 \text{ Ab}$	$0,77 \pm 0,06$ Aab	$0.82 \pm 0.03 \text{ Aa}$	
20	$0,70 \pm 0,04 \text{ Aa}$	$0.76 \pm 0.05 \text{ Aa}$	$0.73 \pm 0.03$ Aa	$0.74 \pm 0.03 \text{ ABa}$	
30	$0,64 \pm 0,09 \text{ Aa}$	$0.61 \pm 0.07 \text{ Aa}$	$0,69 \pm 0,05 \text{ Aa}$	$0.67 \pm 0.04 \text{ Ba}$	
40	$0.59 \pm 0.08$ Aa	$0.76 \pm 0.03$ Aba	$0.70 \pm 0.05 \text{ Aa}$	$0,66 \pm 0,05 \text{ Ba}$	
50	$0,64 \pm 0,08 \text{ Aa}$	$0,72 \pm 0,02 \text{ Aa}$	$0,69 \pm 0,03$ Aa	$0,77 \pm 0,02 \text{ ABa}$	
	Longevidade de fêmeas (dias)				
10	$2,75 \pm 0,47 \text{ bB}$	$7,25 \pm 1,70 \text{ Ab}$	$6,50 \pm 1,19$ Aa	$5,25 \pm 0,62$ Aab	
20	$7,50 \pm 1,32 \text{ Aa}$	$6,75 \pm 1,43 \text{ Aa}$	$6,50 \pm 1,32 \text{ Aa}$	$5,50 \pm 1,19$ Aa	
30	$6,75 \pm 1,70 \text{ Aa}$	$5,00 \pm 0,81 \text{ Aa}$	$4,00 \pm 1,00 \text{ Aa}$	$5,75 \pm 0,47 \text{ Aa}$	
40	$6,75 \pm 1,37$ Aa	$4,00 \pm 1,08 \text{ Aa}$	$4,25 \pm 0,62$ Aa	$4,50 \pm 0,95 \text{ Aa}$	
50	$7,25 \pm 0,47 \text{ Aa}$	$5,00 \pm 1,41 \text{ Aab}$	$5,50 \pm 1,55$ Aab	$3,50 \pm 0,50 \text{ Ab}$	
	Longevidade de machos (dias)				
10	$2,50 \pm 0,28$ Aa	$2,25 \pm 0,25$ Aa	$2,75 \pm 0,47$ Aa	$3,50 \pm 0,86$ Aa	
20	$4,25 \pm 0,75 \text{ Aa}$	$4,00 \pm 0,70 \text{ Aa}$	$3,75 \pm 0,75 \text{ Aa}$	$3,00 \pm 0,70 \text{ Aa}$	
30	$4,00 \pm 0,81 \text{ Aa}$	$4,00 \pm 0,47 \text{ Aa}$	$3,75 \pm 1,19 \text{ Aa}$	$3,00 \pm 0,91$ Aa	
40	$2,75 \pm 1,10 \text{ Aa}$	$4,00 \pm 1,08 \text{ Aa}$	$4,75 \pm 1,65 \text{ Aa}$	$4,25 \pm 0,75 \text{ Aa}$	
50	$3,25 \pm 0,62 \text{ Aa}$	$3,75 \pm 0,75 \text{ Aa}$	$3,25 \pm 1,10 \text{ Aa}$	$1,75 \pm 0,47 \text{ Aa}$	

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Médias seguidas por mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 3. Número de adultos emergidos por ovo (Médias ± erro padrão); Razão sexual (Médias ± erro padrão) e; Longevidade de fêmeas e de machos (Médias ± erro padrão) (Dias) de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) linhagem Ubajara por ovo de *Neoleucinodes elegantalis* Guenée (Lepidoptera: Crambidae) em função da densidade de fêmeas do parasitoide e ovos do inseto-praga

	Fêmeas/ovo				
Densidade	1	3	6	9	
de ovos	Parasitoides/ovo				
10	$1,00 \pm 0,00 \text{ Aa}^1$	$0.91 \pm 0.08$ Aa	$0.85 \pm 0.11$ Ba	$1,00 \pm 0,00$ Aa	
20	$0.91 \pm 0.08$ Aa	$1,00 \pm 0,00 \text{ Aa}$	$1,03 \pm 0,02$ Aa	$1,00 \pm 0,00 \text{ Aa}$	
30	$1,00 \pm 0,00 \text{ Aa}$	$1,00 \pm 0,00 \text{ Aa}$	$1,00 \pm 0,00 \text{ ABa}$	$1,00 \pm 0,00 \text{ Aa}$	
40	$1,00 \pm 0,00 \text{ Aa}$	$1,00 \pm 0,00 \text{ Aa}$	$1,00 \pm 0,00 \text{ ABa}$	$1,00 \pm 0,00 \text{ Aa}$	
50	$1,00 \pm 0,00 \text{ Aa}$	$1,00 \pm 0,00 \text{ Aa}$	$1,00 \pm 0,00 \text{ ABa}$	$1,00 \pm 0,00 \text{ Aa}$	
	Razão sexual				
10	$0,66 \pm 0,03$ Aa	$0.70 \pm 0.07$ Aa	$0.56 \pm 0.06$ Aa	$0,71 \pm 0,03$ Aa	
20	$0,47 \pm 0,04 \text{ Aa}$	$0.63 \pm 0.05 \text{ Aa}$	$0,68 \pm 0,03$ Aa	$0,60 \pm 0,03 \text{ ABa}$	
30	$0,43 \pm 0,09 \text{ Ab}$	$0.57 \pm 0.07$ Aab	$0,63 \pm 0,05$ Aab	$0,72 \pm 0,04$ Aa	
40	$0,64 \pm 0,08 \text{ Aa}$	$0,49 \pm 0,03$ Aba	$0,62 \pm 0,05$ Aa	$0.51 \pm 0.05 \text{ Ba}$	
50	$0.54 \pm 0.08 \text{ Aab}$	$0,59 \pm 0,02 \text{ Aab}$	$0.74 \pm 0.03$ Aa	$0,49 \pm 0,02 \text{ Bb}$	
	Longevidade de fêmeas (dias)				
10	$3,25 \pm 0,47 \text{ Aa}$	$3,25 \pm 0,25 \text{ Aa}$	$4,00 \pm 1,00 \text{ Aa}$	4,25 ± 1,25 Aa	
20	$3,25 \pm 0,25 \text{ Ab}$	$5,75 \pm 0,94$ Aa	$5,00 \pm 0,70$ Aab	$3,00 \pm 0,40 \text{ Ab}$	
30	$5,25 \pm 0,85$ Aab	$4,00 \pm 1,10 \text{ Ab}$	$6,75 \pm 1,04$ Aa	$4,25 \pm 1,03 \text{ Ab}$	
40	$5,50 \pm 1,19$ Aa	$3,25 \pm 0,47$ Aa	$4,00 \pm 1,08 \text{ Aa}$	$3,75 \pm 0,47 \text{ Aa}$	
50	$3,50 \pm 0,95 \text{ Aa}$	$5,25 \pm 1,43$ Aa	$4,75 \pm 1,54 \text{ Aa}$	$4,25 \pm 1,31 \text{ Aa}$	
	Longevidade de machos (dias)				
10	$2,50 \pm 0,28 \text{ Bb}$	$2,75 \pm 0,25$ Aab	$4,75 \pm 1,31$ Aa	$2,25 \pm 0,25 \text{ Ab}$	
20	$3,00 \pm 0,40 \text{ ABa}$	$3,25 \pm 0,69 \text{ Aa}$	$2,75 \pm 0,25 \text{ Aa}$	$3,00 \pm 0,70 \text{ Aa}$	
30	$3,25 \pm 0,69 \text{ ABa}$	$4,00 \pm 1,22 \text{ Aa}$	$3,75 \pm 0,75 \text{ Aa}$	$3,25 \pm 0,94 \text{ Aa}$	
40	$2,25 \pm 0,25 \text{ Bb}$	$2,50 \pm 0,50 \text{ Ab}$	$4,50 \pm 0,86$ Aa	$3,00 \pm 0,57 \text{ Aab}$	
50	$4,00 \pm 0,91 \text{ Aa}$	$3,25 \pm 0,25 \text{ Aa}$	$4,25 \pm 0,47$ Aa	$2,50 \pm 0,28$ Aa	

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Médias seguidas por mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 4. Número de adultos emergidos por ovo (Médias ± erro padrão); Razão sexual (Médias ± erro padrão) e; Longevidade de fêmeas e de machos (Médias ± erro padrão) (Dias) de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) linhagem Guaraciaba por ovo de *Neoleucinodes elegantalis* Guenée (Lepidoptera: Crambidae) em função da densidade de fêmeas do parasitoide e ovos do inseto-praga

	Fêmeas/ovo				
Densidade	1	3	6	9	
de ovos	Parasitoides/ovo				
10	$1,02 \pm 0,01 \text{ Aab}^1$	$1,02 \pm 0,01$ Aab	$1,12 \pm 0,07$ Aa	$1,00 \pm 0,00 \text{ Ab}$	
20	$1,00 \pm 0,00 \text{ Ba}$	$1,00 \pm 0,00 \text{ Aa}$	$1,00 \pm 0,00 \text{ Ba}$	$1,00 \pm 0,00 \text{ Aa}$	
30	$1,00 \pm 0,00 \; \text{Ba}$	$1,00 \pm 0,00 \text{ Aa}$	$1,00 \pm 0,00 \text{ Ba}$	$1,00 \pm 0,00 \text{ Aa}$	
40	$1,00 \pm 0,00 \text{ Ba}$	$1,00 \pm 0,00 \text{ Aa}$	$1,00 \pm 0,00 \text{ Ba}$	$1,00 \pm 0,00$ Aa	
50	$1,00 \pm 0,00 \; \text{Ba}$	$1,00 \pm 0,00 \text{ Aa}$	$1,00 \pm 0,00 \text{ Ba}$	$1,00 \pm 0,00 \text{ Aa}$	
	Razão sexual				
10	$0,69 \pm 0,03$ Aa	$0,65 \pm 0,04$ Aab	$0,62 \pm 0,07$ Aab	$0,47 \pm 0,06 \text{ Ab}$	
20	$0,60 \pm 0,05 \text{ ABa}$	$0.59 \pm 0.05 \text{ Aa}$	$0,55 \pm 0,06 \text{ Aa}$	$0,43 \pm 0,06 \text{ Aa}$	
30	$0,59 \pm 0,05 \text{ ABa}$	$0.56 \pm 0.07 \text{ Aa}$	$0,44 \pm 0,05 \text{ Aa}$	$0.55 \pm 0.07 \text{ Aa}$	
40	$0,47 \pm 0,07 \text{ BCa}$	$0.56 \pm 0.06 \text{ Aa}$	$0,53 \pm 0,05 \text{ Aa}$	$0.54 \pm 0.05 \text{ Aa}$	
50	$0,40 \pm 0,03 \text{ Ca}$	$0.54 \pm 0.08 \text{ Aa}$	$0,54 \pm 0,05 \text{ Aa}$	$0,49 \pm 0,05 \text{ Aa}$	
	Longevidade de fêmeas (dias)				
10	$5,50 \pm 0,50 \; \mathrm{Ba}$	$3,50 \pm 0,64 \text{ Ab}$	$4,75 \pm 0,25$ ABab	$4,00 \pm 0,70 \text{ ABab}$	
20	$4,50 \pm 0,28 \; \text{Bab}$	$4,00 \pm 0,57$ Aab	$5,00 \pm 0,70 \text{ Aa}$	$3,50 \pm 0,28 \text{ ABb}$	
30	$4,75 \pm 0,25 \text{ Bb}$	$6,00 \pm 0,57 \text{ Aa}$	$4,75 \pm 0,25$ ABb	$3,25 \pm 0,25 \text{ Bc}$	
40	$4,75 \pm 0,85 \text{ Ba}$	$3,50 \pm 0,50 \text{ Aab}$	$2,50 \pm 0,28 \text{ Bb}$	$4,75 \pm 0,25$ Aa	
50	$7,25 \pm 0,47 \text{ Aa}$	$5,00 \pm 1,41 \text{ Aab}$	$5,50 \pm 1,55$ Aab	$3,50 \pm 0,50 \text{ ABb}$	
	Longevidade de machos (dias)				
10	$3,25 \pm 0,47 \text{ Ba}$	$3,50 \pm 0,28$ Aa	$3,75 \pm 0,47 \text{ Aa}$	$3,75 \pm 0,85 \text{ ABa}$	
20	$3,50 \pm 0,64$ Aa	$3,25 \pm 0,62 \text{ Aa}$	$3,00 \pm 0,40 \text{ Aa}$	$2,50 \pm 0,28 \; \mathrm{Ba}$	
30	$3,50 \pm 0,28$ Aab	$3,75 \pm 0,47$ Aab	$4,25 \pm 0,25 \text{ Aa}$	$2,75 \pm 0,47 \text{ Ab}$	
40	$2,75 \pm 0,25 \text{ Aa}$	$2,75 \pm 0,47 \text{ Aa}$	$3,75 \pm 0,25 \text{ Aa}$	$3,00 \pm 0,40 \text{ ABa}$	
50	$3,00 \pm 0,57 \text{ Aa}$	$3,00 \pm 0,40 \text{ Aa}$	$3,50 \pm 0,28 \text{ Aa}$	$4,00 \pm 0,40 \text{ ABa}$	

<sup>1</sup>Médias seguidas por mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 5. Número de adultos emergidos por ovo (Médias ± erro padrão); Razão sexual (Médias ± erro padrão) e Longevidade de fêmeas e de machos (Médias ± erro padrão) (Dias) de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) linhagem Ubajara por ovo *Spodoptera frugiperda* J E Smith (Lepidoptera: Noctuidae) em função da densidade de fêmeas do parasitoide e ovos do inseto-praga

	Fêmeas/ovo				
Densidade	1	3	6	9	
de ovos	Parasitoides/ovo				
10	$0,53 \pm 0,16 \text{ Ab}^1$	$0,66 \pm 0,15 \text{ Bab}$	$0.89 \pm 0.08 \text{ Aa}$	$0.91 \pm 0.05 \text{ ABa}$	
20	$0.58 \pm 0.15 \text{ Ab}$	$1,03 \pm 0,01$ Aa	$0.81 \pm 0.11 \text{ Aab}$	$0.76 \pm 0.16 \text{ Bab}$	
30	$0,40 \pm 0,16 \text{ Ab}$	$0.80 \pm 0.10 \text{ ABab}$	$0.92 \pm 0.11 \text{ Aa}$	$0,75 \pm 0,25 \text{ Bab}$	
40	$0,62 \pm 0,16 \text{ Ab}$	$1,04 \pm 0,01$ Aa	$1,05 \pm 0,01 \text{ Aa}$	$0.94 \pm 0.16 \text{ ABab}$	
50	$0,66 \pm 0,14 \text{ Ab}$	$0.70 \pm 0.16 \text{ Bb}$	$0.96 \pm 0.14 \text{ Aab}$	$2,07 \pm 1,33 \text{ ACa}$	
	Razão sexual				
10	$0,30 \pm 0,13 \text{ Aa}$	$0,52 \pm 0,14 \text{ Aa}$	$0,65 \pm 0,12 \text{ Aa}$	$0,65 \pm 0,13 \text{ Aa}$	
20	$0,43 \pm 0,11 \text{ Aa}$	$0.72 \pm 0.06 \text{ Aa}$	$0,68 \pm 0,07 \text{ Aa}$	$0,64 \pm 0,10 \text{ Aa}$	
30	$0.28 \pm 0.11 \text{ Ab}$	$0,56 \pm 0,08$ Aa	$0.71 \pm 0.07 \text{ Aa}$	$0.58 \pm 0.11 \text{ Aa}$	
40	$0,49 \pm 0,12 \text{ Ab}$	$0,70 \pm 0,05 \text{ Aab}$	$0.79 \pm 0.03 \text{ Aa}$	$0,52 \pm 0,08 \text{ Ab}$	
50	$0,44 \pm 0,11 \text{ Aa}$	$0.57 \pm 0.11 \text{ Aa}$	$0,61 \pm 0,06 \text{ Aa}$	$0.72 \pm 0.03$ Aa	
	Longevidade de fêmeas (dias)				
10	$3,25 \pm 0,47 \text{ ABa}$	$4,00 \pm 0,70 \text{ Aa}$	$3,00 \pm 0,40 \text{ Ba}$	$3,25 \pm 0,47 \text{ Ba}$	
20	$2,75 \pm 0,47 \text{ Ba}$	$3,00 \pm 0,40 \text{ Aa}$	$4,25 \pm 0,94 \text{ ABa}$	$3,25 \pm 0,25 \text{ Ba}$	
30	$4,75 \pm 0,75 \text{ Aa}$	$3,50 \pm 0,50 \text{ Aa}$	$4,75 \pm 0,62 \text{ ABa}$	$3,00 \pm 0,40 \text{ Ba}$	
40	$3,00 \pm 0,70 \text{ ABb}$	$4,00 \pm 0,40 \text{ Aab}$	$5,00 \pm 0,40 \text{ ABa}$	$4,75 \pm 0,47 \text{ Aa}$	
50	$4,25 \pm 0,47 \text{ ABa}$	$4,25 \pm 0,25$ Aa	$5,25 \pm 0,47$ Aa	$4,25 \pm 0,25 \text{ ABa}$	
	Longevidade de machos (dias)				
10	$2,25 \pm 0,25$ Aa	$2,20 \pm 0,28$ Aa	$2,00 \pm 0,45 \text{ Aa}$	$2,25 \pm 0,25$ Aa	
20	$2,50 \pm 0,28 \text{ Aa}$	$2,50 \pm 0,28$ Aa	$3,00 \pm 0,40 \text{ Aa}$	$2,75 \pm 0,47 \text{ Aa}$	
30	$3,25 \pm 0,47$ Aa	$2,75 \pm 0,47 \text{ Aa}$	$3,25 \pm 0,25 \text{ Aa}$	$3,25 \pm 0,47$ Aa	
40	$3,00 \pm 0,57 \text{ Aa}$	$2,75 \pm 0,25 \text{ Aa}$	$3,00 \pm 0,70 \text{ Aa}$	$2,75 \pm 0,25 \text{ Aa}$	
50	$2,50 \pm 0,95$ Aa	$3,50 \pm 0,28$ Aa	$3,00 \pm 0,70 \text{ Aa}$	$2,75 \pm 0,47$ Aa	

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Médias seguidas por mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 6. Número de adultos emergidos por ovo (Médias ± erro padrão); Razão sexual (Médias ± erro padrão) e; Longevidade de fêmeas e de machos (Médias ± erro padrão) (Dias) de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) linhagem Guaraciaba por ovo *Spodoptera frugiperda* J E Smith (Lepidoptera: Noctuidae) em função da densidade de fêmeas do parasitoide e ovos do inseto-praga

	Fêmeas/ovo				
Densidade	1	3	6	9	
de ovos	Parasitoides/ovo				
10	$1,08 \pm 0,03 \text{ Aa}^1$	$1,02 \pm 0,01$ Ba	$1,05 \pm 0,04$ BCa	$0.95 \pm 0.11$ Ba	
20	$1,00 \pm 0,04 \text{ ABb}$	$1,42 \pm 0,15$ Aa	$1,35 \pm 0,09$ Aab	$1,56 \pm 0,17$ Aa	
30	$0.82 \pm 0.08 \text{ BCb}$	$1,09 \pm 0,07 \text{ Ba}$	$1,22 \pm 0,10 \text{ ABa}$	$1,06 \pm 0,06 \text{ Ba}$	
40	$0,90 \pm 0,06 \text{ ABCa}$	$0.98 \pm 0.07 \text{ Ba}$	$1,05 \pm 0,04$ BCa	$0.95 \pm 0.12 \text{ Bba}$	
50	$0.75 \pm 0.10 \mathrm{Ca}$	$0.93 \pm 0.07 \text{ Ba}$	$0.81 \pm 0.10 \mathrm{Ca}$	$1,18 \pm 0,27 \text{ ABa}$	
		Razão	sexual		
10	$0,61 \pm 0,08$ Aa	$0.70 \pm 0.07$ Aa	$0,75 \pm 0,05$ Aa	$0.74 \pm 0.06$ Aa	
20	$0.79 \pm 0.08 \text{ Aa}$	$0,59 \pm 0,06 \text{ Ab}$	$0,62 \pm 0,05 \text{ Aab}$	$0.58 \pm 0.04 \text{ ABb}$	
30	$0.58 \pm 0.08$ Aa	$0,60 \pm 0,07$ Aa	$0,54 \pm 0,06$ Aa	$0,55 \pm 0,06 \text{ ABa}$	
40	$0,62 \pm 0,08$ Aa	$0.72 \pm 0.03$ Aa	$0,60 \pm 0,05 \text{ Aa}$	$0,69 \pm 0,05 \text{ Ba}$	
50	$0,66 \pm 0,05 \text{ Aa}$	$0.74 \pm 0.02 \text{ Aa}$	$0,70 \pm 0,04$ Aa	$0.53 \pm 0.03 \text{ ABb}$	
	Longevidade de fêmeas (dias)				
10	$2,25 \pm 0,25 \text{ Bc}$	$2,75 \pm 0,25$ Cc	$6,75 \pm 0,25$ Aa	$4,25 \pm 0,75 \text{ Ab}$	
20	$3,25 \pm 0,47 \text{ Bb}$	$6,25 \pm 0,47$ Aba	$2,75 \pm 0,25$ Cb	$4,25 \pm 0,62 \text{ Ab}$	
30	$6,00 \pm 0,70 \text{ Aa}$	$6,50 \pm 0,50$ Aa	$5,25 \pm 0,47 \text{ Ba}$	$4,50 \pm 0,95 \text{ Aa}$	
40	$5,75 \pm 0,94$ Aa	$4,25 \pm 1,03 \text{ ABCa}$	$4,25 \pm 0,25$ Ba	$5,00 \pm 0,70 \text{ Aa}$	
50	$4,25 \pm 0,62 \text{ ABa}$	$4,00 \pm 1,00 \text{ BCa}$	$5,00 \pm 0,81$ Ba	$4,25 \pm 0,94 \text{ Aa}$	
	Longevidade de machos (dias)				
10	$2,50 \pm 0,28$ Aa	$3,00 \pm 0,40 \text{ Aa}$	$3,50 \pm 0,5 \text{ Aa}$	2,75 ± 0,47 Aa	
20	$3,50 \pm 0,64$ Aa	$4,50 \pm 1,04 \text{ Aa}$	$3,00 \pm 0,57 \text{ Aa}$	$3,00 \pm 0,40 \text{ Aa}$	
30	$3,00 \pm 0,40 \text{ Aa}$	$3,50 \pm 0,64$ Aa	$2,75 \pm 0,75 \text{ Aa}$	$2,25 \pm 0,25 \text{ Aa}$	
40	$2,75 \pm 0,47 \text{ Ab}$	$3,75 \pm 0,25$ Aab	$3,50 \pm 0,28$ Aab	$4,00 \pm 0,40 \text{ Aa}$	
50	$3,25 \pm 0,47$ Aa	$3,25 \pm 0,62$ Aa	$3,00 \pm 0,70 \text{ Aa}$	$3,75 \pm 0,75 \text{ Aa}$	

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Médias seguidas por mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

#### 4 DISCUSSÃO

A média geral de parasitoides emergidos por ovo variou com as densidades fêmea/hospedeiro utilizadas. O número de parasitoides emergidos por hospedeiro varia em função da qualidade e volume do hospedeiro. O tamanho do hospedeiro pode influenciar o número de ovos depositados pela fêmea e o tamanho dos descendentes (VINSON, 1997). Ovos de *A. kuehniella* possuem, em média, 0,58 mm de comprimento e 0,33 mm de largura (BRINDLEY, 1930). Ovos de *N. elegantalis* apresentam largura e comprimento médio de 0,46 e 0,69 mm, respectivamente (BLACKMER *et al.*, 2001), e ovos de S. *frugiperda* 0,4 mm de diâmetro e 0,3 mm de altura (SPARKS, 1979).

Em hospedeiros como *A. kuehniella* geralmente existe o desenvolvimento de 1,0 parasitoide por ovo (KLOMP & TERRINK, 1978), o que foi constatado nessa pesquisa. Porém mais de um ovo parasitoide pode ser inicialmente depositado por hospedeiro, como verificado por Molina (2003), no qual obteve 1,20 e 1,18 parasitoides de *T. pretiosum* (Linhagem G18) e *T. atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (Linhagem Atp), respectivamente, na densidade de 1 fêmea dos parasitoides por ovo de *A. kuehniella*.

A emergência de "menor número" de parasitoides por ovo pode ser vantajoso em programas de controle biológico, visto que, maior quantidade de recursos (nutrientes) fica disponível para o desenvolvimento do inimigo natural, o que provavelmente proporcionará a obtenção de parasitoides mais fortes e competitivos (BESERRA *et al.*, 2005).

A linhagem Guaraciaba apresentou razão sexual acima de 0,50 em todas as densidades de fêmeas utilizadas para os hospedeiros *A. kuehniella* e *S. frugiperda*, valor este ideal para o controle de qualidade em produção massal de *Trichogramma* spp. (NAVARRO, 1998) utilizando *A. kuehniella* e para manutenção do parasitoide em campo quando liberado visando o controle de *S. frugiperda*.

A eficiência do parasitismo depende das fêmeas que serão utilizadas, porque são elas que efetivamente realizam o controle da praga. Assim, faz-se necessária a realização de estudos relacionados ao comportamento de reprodução e multiplicação dos parasitoides, visando o aumento na produção de fêmeas em laboratório. O número de fêmeas produzidas por prole é também determinante para a taxa de crescimento de uma população, pois quanto mais filhas cada mãe produzir, mais rápido será o aumento populacional e, consequentemente os hospedeiros serão suprimidos de forma mais eficaz (STOUTHAMER *et al.*, 1992).

A influência dos machos sobre o controle da razão sexual da progênie é considerada relativamente pequena. Esse fato é predominantemente atribuído às fêmeas, sendo responsáveis por assumir a decisão de fertilizar ou não os óvulos e assim regular a razão sexual da progênie (MELLO, 2007). A teoria de Hamilton proposta em 1967, desenvolvida inicialmente para espécies gregárias, pressupõe que a densidade de múltiplas fêmeas em uma mesma área disputando um único hospedeiro estimula a produção de maior percentual de machos na progênie. A explicação está no fato de que quando somente uma fêmea oviposita em um hospedeiro, todos os machos na progênie serão irmãos, assim a seleção ocorre a favor das mesmas, pois produzirão somente o número de machos suficientes para fertilizar todas as fêmeas disponíveis no local onde os machos emergirem, visto que, uma produtividade adicional de machos poder levar à competição e ao desperdício de recursos. No

entanto, quando várias fêmeas ovipositam em um mesmo hospedeiro, nem todos os machos que emergirem serão irmãos. Assim, em função do aumento na produção de machos, uma fêmea pode aumentar as chances dos descendentes machos, e não os filhos de outra fêmea, fertilizar as fêmeas disponíveis (MELLO *et al.* 2009).

Apesar de vários trabalhos fundamentarem essa teoria (ANTOLIN, 1992; CARNEIRO *et al*, 2009; CANDELÁRIA, 2013; VARGAS *et al.*, 2014; OLIVEIRA *et al.*, 2018), alguns autores comprovam o contrário (SINHA & SINGH, 1979), e outros relatam que não foi verificado diferença na razão sexual em função da densidade de parasitoide por hospedeiro (PARANHOS *et al.*, 2008; PEREIRA *et al.*, 2010).

A longevidade de machos e de fêmeas foi afetada pelas densidades de parasitoides/hospedeiros. A manutenção da longevidade é um dos quesitos para testes referentes ao controle de qualidade em criação massal de parasitoides (VAN LENTEREN, 2000). Em condições de campo, esse parâmetro também é importante, pois quanto maior a longevidade de fêmeas maior será sua capacidade de busca hospedeira (BLEICHER & PARRA, 1991), visto que permanecerá por maior tempo na área (SORENSEN *et al.*, 2012).

Geralmente as fêmeas de *Trichogramma* spp. apresentam maior longevidade em relação aos machos. Esta característica está associada ao fato das fêmeas apresentarem o hábito de se alimentarem do líquido que sai do córion no local perfurado pelo ovipositor (BLEICHER & PARRA, 1991). Os machos, na maioria das vezes, apresentam menor longevidade porque somente são capazes de se alimentar de néctar em condições de campo e de mel em laboratório (MELLO & AGUIAR-COELHO, 2009). É necessário o estabelecimento da quantidade ideal de parasitoides/hospedeiros para garantir maior longevidade da progênie, uma vez que, em altas densidades haverá menor aproveitamento nutricional pela alta competição, propiciando menor longevidade dos parasitoides (GODFRAY, 1995). Fêmeas de *T. pretiosum* apresentaram menor longevidade na densidade de 1 fêmea do parasitoide por 40 ovos de *A. kuehniella*. Densidades menores são suficientes para garantir maior longevidade da espécie (ZART *et al.*, 2012). A longevidade de *T. pretiosum* variou de 3,9 (1:55) a 4,5 (1:25) dias nas densidades de 1 fêmea por 55 e 25 ovos de *N. elegantalis*, respectivamente (OLIVEIRA, 2013).

A duração do ciclo (ovo-adulto) não foi afetada pelas combinações envolvendo densidades de parasitoides e número de ovos do hospedeiro. A quantidade de fêmeas parasitoides a serem utilizadas por hospedeiro é um dos fatores que podem afetar a duração do ciclo de vida da progênie. O prolongamento do ciclo pode ser explicado pela melhor adaptação dos parasitoides aos seus hospedeiros e pela quantidade e qualidade de nutrientes

disponíveis (BRODEUR & BOIVIN, 2004). A redução do tempo de desenvolvimento de ovo a adulto do parasitoide com o aumento da densidade de fêmeas do inimigo natural por hospedeiro, pode estar relacionado a fatores como a competição entre imaturos, com o combate físico ou supressão fisiológica (BRODEUR & BOIVIN, 2004; PEREIRA *et al.*, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2018). Após realizar o parasitismo, o hospedeiro se torna a fonte de alimento e abrigo do inimigo natural. Assim, se houver quantidade de imaturo acima do suportado pelo hospedeiro pode haver alteração no tempo de desenvolvimento (CÔNSOLI & VINSON, 2002).

Pelos resultados obtidos no presente trabalho, de acordo com o número de parasitoides emergidos por ovo, as densidades de parasitoide/hospedeiro de 6:10 e 3:10 A. kuehniella, 6:20 e 6:10 N. elegantalis, 9:50 e 9:20 S. frugiperda nas linhagens Ubajara e Guaraciaba, respectivamente, são recomendadas visando à obtenção de progênies do parasitoide com boa qualidade.

#### 5 CONCLUSÃO

As densidades parasitoide/hospedeiro de 6:10 e 3:10 *A. kuehniella*, 6:20 e 6:10 *N. elegantalis*, 9:50 e 9:20 *S. frugiperda* nas linhagens Ubajara-CE e Guaraciaba-CE, respectivamente, apresentaram resultados favoráveis no que se refere à reprodução das linhagens.

# REFERÊNCIAS

- AQUINO, M. F. S. 2011. Estudo do comportamento de busca e seleção de hospedeiros dos parasitoides de ovos *Trissolcus basalis* e *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae). 100 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) Universidade de Brasilia, Brasilia, 2011.
- ANTOLIN, M. F. Sex ratio variation in a parasitic wasp. II. Diallel cross. **Evolution**, v. 46, p. 1511-1524, 1992.
- BARBOSA, L. S.; COURI, M. S.; AGUIAR COELHO, V. M. Desenvolvimento de *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas de *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775) (Diptera: Calliphoridae), utilizando diferentes densidades do parasitoide. **Biota Neotropica**, v. 8, p. 49-54, 2008.
- BESERRA, E. B.; PARRA, J. R. P. Impacto do número de camadas de ovos de *Spodoptera frugiperda* no parasitismo por *Trichogramma atopovirilia*. **Scientia Agricola**, v. 2, p. 190-193, 2005.
- BLACKMER, J. L.; EIRAS, A. E.; SOUZA, C. L. M. Oviposition preference of *Neoleucinodes elegantalis* (Guenee) (Lepidoptera: Crambidae) and rates of parasitism by *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on *Lycopersicon esculentum* in São José de Ubá, RJ, Brazil. **Neotropical Entomology**, v.30, p.89-95, 2001.
- BLEICHER, E.; PARRA, J. R. P. Efeito do hospedeiro de substituição e da alimentação na longevidade de *Trichogramma* spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, p. 1845-1850, 1991.
- BRINDLEY, T. A. The growth and development of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera) and *Tribolium confusum* Duval (Coleoptera) under controlled conditions of temperature and relative humidity. **Annals of Entomological Society of America**, v. 23, p. 741-757, 1930.
- BRODEUR, J.; BOIVIN, G. Functional ecology of immature parasitoids. **Annual Review of Entomology**, v. 49, p. 27-49, 2004.
- CANDELÁRIA, M. C. 2013. *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) Densidade e idade do parasitoide e do hospedeiro alternativo e dispersão em plantação de eucalipto. 84 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, 2013.
- CARNEIRO. R. T.; FERNANDES, A. O, CRUZ, I. Influência da competição intra-específica entre fêmeas e da ausência de hospedeiro no parasitismo de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) sobre ovos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 53, p. 482-486, 2009.
- CÔNSOLI, F. L.; VINSON, S. B. Clutch size, development and wing morph differentiation of *Melittobia digitata* Dahms (Hymenoptera: Eulophidae). **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 102, p. 135-143, 2002.

- GODFRAY, H. C. J. Evolutionary theory of parent-offspring conflict. **Nature**, v. 376, p. 133-138, 1995.
- JALALI, S. K. Natural Occurrence, Host Range and Distribution of Trichogrammatid Egg Parasitoids. In: SITHANANTHAM, S. (Ed.). **Biological control of insect pests using egg parasitoids**, p. 67-76, 2013.
- KLOMP, H.; TEERINK, B. J. The elimination of supernumerary larvae of the gregarious eggparasitoid *Trichogramma embryophagum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in eggs of the host *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Entomophaga**, v. 23, p. 153-159, 1978.
- MAGALHÃES, G. O.; GOULART, R. M.; VACARI, A. M.; BORTOLI, S. A. Parasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em diferentes hospedeiros e cores de cartelas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 79, p. 55-60, 2012.
- MELLO, R. S.; BORJA, G. E. M.; AGUIAR-COELHO, V. M. Exposure of a single host (*Chrysomya megacephala*) (Calliphoridae) to different quantities of female parasitoids (*Nasonia vitripennis*) (Pteromalidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 53, p. 672-678, 2009.
- MELLO, R. S.; AGUIAR-COELHO, V. M. Durations of immature stage development period of *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera, Pteromalidae) under laboratory conditions: implications for forensic entomology. **Parasitology Research**, v. 104, p. 411-418, 2009.
- MOLINA, R. M. S. 2003. **Bioecologia de duas espécies de** *Trichogramma* para o controle de *Ecdytolopha aurantiana* (Lima, 1927) (Lepidoptera: Tortricidae) em citros. 80 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.
- NAVARRO, A. M. *Trichogramma* spp.: producción, uso y manejo en Colombia. Guadalajara de Buga: Impretec, 176p., 1998.
- NEIL, K. A.; SPECHT, H. B. Field releases of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera Trichogrammatidae) for suppression of corn carworm, *Heliothis zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae), egg populations on sweet corn in Nova Scotia. **The Canadian Entomologist**, v. 122, p. 1259-1266, 1990.
- OLIVEIRA, C. M. 2013. Efeito da densidade e da idade de ovos de *Neoleucinodes elegantalis* (Guenée) (Lepidoptera: Crambidae) sobre parâmetros biológicos e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). 66 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2013.
- OLIVEIRA, F. A. L.; SILVA, R. O.; OLIVEIRA, N. R. X.; ANDRADE, G. S.; PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; COUTINHO, C. R.; PASTORI, P. L. Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) with different densities and parasitism periods in *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) pupae. **Folia Biologica** (**Kraków**), v. 66, p. 103-110, 2018.
- PARANHOS, B. J.; COSTA, M. L. Z.; OVRUSKI, S. M.; ALVES, R. M.; BLUMMER, L.; WALDER, J. M. M Offspring in response to parental female densities in the fruit fly

- parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae: Opiinae). **Florida Entomologist**, v. 91, p. 628-635, 2008.
- PARRA, J. R. P.; CÔNSOLI, F. L. Criação massal e controle de qualidade de parasitoides de ovos. In: BUENO, V. H. P. **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Lavras: Editora UFLA, p. 169-197, 2009.
- PARRA, J. R. P. Biological control in Brazil: An overview. **Scientia Agricola**, v. 71, p. 420-429, 2014.
- PASTORI, P. L., MONTEIRO, L. B.; BOTTON, M. 2008. Biologia e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) linhagem bonagota criado em ovos de *Bonagota salubricola* (Meyrick) (Lepidoptera, Tortricidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 52, p. 472-476, 2008.
- PASTORI, P. L.; PEREIRA, F. F.; ANDRADE, G. S.; SILVA, R. O.; ZANUNCIO, J. C.; PEREIRA, A. I. A. Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) in pupae of two lepidopterans defoliators of eucalypt. **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 38, p. 91-93, 2012.
- PEREIRA, F. F. ZANUNCIO, J. C.; SERRAO, J. E.; ZANUNCIO, T. V.; PRATISSOLI, D.; PASTORI, P. L. The density of females of *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 82, p. 323-331, 2010.
- PINTO, A. S.; PARRA, J. R. P. Liberações de inimigos naturais. In: PARRA, J.R. P. *et al.* **Controle biológico no Brasil**: Parasitóides e predadores. São Paulo: Manole, p. 325-342, 2002.
- SINHA, T. B.; SINGH, R. Studies on the bionomics of *Trioxys (Binodoxys) indicus* [Hym.: Aphidiidae]: effect of population densities on sex ratio. **Entomophaga**, v. 24, p. 289-294, 1979.
- SIQUEIRA, J. R.; BUENO, R. C. O. F.; BUENO, A. F.; VIEIRA, S. S. Preferência hospedeira do parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum*. **Ciência Rural**, v. 42, p. 1-5, 2012.
- SPARKS, A.N. A review of the biology of the fall armyworm. **Florida Entomologist**, v.62, p. 82-87, 1979.
- STOUTHAMER, R.; LUCK, R. F.; WERREN, J. H. Genetics of sex determination and the improvement of biological control using parasitoids. **Environmental Entomology**, v. 21, p. 427-435, 1992.
- SORENSEN, J. G.; ADDISON, M. F.; TERBLANCHE, J. S. Mass-rearing of insects for pest management: Challenges, synergies and advances from evolutionary physiology. **Crop Protection**, v. 38, p. 87-94, 2012.
- VAN LENTEREM, J. C. Controle de qualidade de agentes de controle biológico produzidos massalmente: conhecimento, desenvolvimento e diretrizes, In: 71 BUENO, V.H.P. (Ed.).

**Controle biológico de pragas**: produção massal e controle de qualidade. Lavras: MG: UFLA, Cap. 2, p. 21-40, 2000.

VARGAS, E. L.; PEREIRA, F. F.; CALADO, V. R. F.; GLAESER, D. F.; RODRIGUES, B. A. C.; SILVA, N. V. Densidade de fêmeas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) por pupa de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Sitientibus série Ciências Biológicas**, v. 13, p. 1-7, 2014.

VINSON, S. B. Comportamento de seleção hospedeira de parasitoides de ovos, com ênfase na família Trichogrammatidae. In PARA, J. R. P, ZUCCHI, R. A. *Trichogramma* e o controle biológico aplicado. Piracicaba: FEALQ, cap.4, p.67-120, 1997.

WAJNBERG, E. Genetics of the behavioral ecology of egg parasitoids. In: CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on** *Trichogramma*. Dordrecht: Springer, p. 150-159, 2010.

ZART, M.; BERNARDI, O.; NUNES, A. M.; ANDERSSON, F. S.; MANFREDI-COIMBRA, S.; BUSATO, G. R.; GARCIA, M. S. Influência do fotoperíodo sobre aspectos biológicos e parasitismo de ovos de *Anagasta kuenhiella* (Lepidoptera, Pyralidae) por *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera, Trichogrammatidae). **EntomoBrasilis**, v. 5, p. 115-119, 2012.

# 4 DESEMPENHO DE LINHAGENS DE *Trichogramma pretiosum* (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) EM DIFERENTES TEMPOS DE EXPOSIÇÃO E HOSPEDEIROS

#### **RESUMO**

Estudos visando determinar o melhor período de contato parasitoide/hospedeiro a fim de verificar a adaptação/adequação de inimigos naturais aos insetos-praga são essenciais. Objetivou-se, com este trabalho, avaliar o desempenho de duas linhagens de Trichogramma coletadas na região da Serra da Ibiapaba, Estado do Ceará, sob diferentes tempos de exposição aos hospedeiros Anagasta kuehniella Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), Neoleucinodes elegantalis Guenée (Lepidoptera: Crambidae) e Spodoptera frugiperda J E Smith (Lepidoptera: Noctuidae). O experimento foi realizado no Laboratório de Entomologia Aplicada (LEA) da Universidade Federal do Ceará (UFC) com duas linhagens de Trichogramma pretiosum Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (Ubajara e Guaraciaba) coletadas naturalmente parasitando ovos de N. elegantalis em frutos de tomateiro (Solanum lycopersicum L.) em áreas comerciais. Foram utilizadas as densidades de 6 fêmeas para 23 ovos de A. kuehniella; 8 fêmeas para 22 ovos de N. elegantalis e 7 fêmeas do parasitoide para 28 ovos de S. frugiperda para a linhagem Ubajara. Para a linhagem Guaraciaba, foram 7 fêmeas para 35 ovos de A. kuehniella; 7 fêmeas para 41 ovos de N. elegantalis e 6 fêmeas para 13 ovos de S. frugiperda. Os ovos de cada hospedeiro foram colados em cartelas de cartolina azul celeste usando goma arábica (30%). As cartelas foram inseridas em tubos de vidro (8,5 x 2,5 cm) e logo após foram liberadas as fêmeas parasitoides. Os ovos foram expostos ao parasitismo por 6, 12, 24 e 48 horas, e após esse período, as cartelas foram transferidas para novos tubos de vidro e os mesmos acondicionados em laboratório sob condições controladas (25 ± 2°C, umidade relativa de 70 ± 10% e fotoperíodo de 12 horas), permanecendo até a emergência dos parasitoides. A porcentagem de parasitismo e de emergência; a razão sexual; o número de parasitoides emergidos por ovo; a longevidade (dias) de machos e de fêmeas e a duração do ciclo (ovo-adulto) foram os parâmetros avaliados. O experimento foi implantado em delineamento experimental inteiramente casualizado com 12 repetições. Os dados foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Duncan (p ≤0,05). Os ovos dos hospedeiros expostos a diferentes tempos de exposição proporcionaram bom desenvolvimento embrionário das linhagens de T. pretiosum, o que favorece o desempenho dos parasitoides em condições de laboratório.

**Palavras-chave:** Parasitoide de ovos. Período de exposição. Parâmetros biológicos. Controle biológico.

#### **ABSTRACT**

Studies aiming to determine the best period of parasitoid / host contact to verify the adaptation / suitability of natural enemies to pest insects are essential. The objective of this work was to evaluate the performance of two Trichogramma lineages collected in the region of the Serra da Ibiapaba, State of Ceará, under different periods of exposure to hosts *Anagasta* kuehniella Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), Neoleucinodes elegantalis Guenée (Lepidoptera: Crambidae) and Spodoptera frugiperda JE Smith (Lepidoptera: Noctuidae). The experiment was carried out at the Laboratory of Applied Entomology (LEA) of the Federal University of Ceará (UFC) with two lineages of Trichogramma pretiosum Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (Ubajara and Guaraciaba) collected naturally parasitizing eggs of N. elegantalis in tomato fruits (Solanum lycopersicum L.) in commercial areas. The densities of 6 females were used for 23 eggs of A. kuehniella; 8 females for 22 eggs of N. elegantalis and 7 females of the parasitoid for 28 eggs of S. frugiperda for the lineage Ubajara. For the Guaraciaba lineage, there were 7 females for 35 eggs of A. kuehniella; 7 females for 41 eggs of N. elegantalis and 6 females for 13 eggs of S. frugiperda. The eggs of each host were glued in celestial blue cards using gum arabic (30%). The cards were inserted into glass tubes (8.5 x 2.5 cm) and soon after the parasitoid females were released. The eggs were exposed to parasitism for 6, 12, 24 and 48 hours, and after that period, the cards were transferred to new glass tubes and placed in the laboratory under controlled conditions (25  $\pm$  2 °C, relative humidity of  $70 \pm 10\%$  and photoperiod of 12 hours), remaining until the emergence of the parasitoids. Percentage of parasitism; emergency percentage; sexual reason; number of parasitoids emerged per egg; longevity (days) of males and females and cycle duration (eggadult) were the evaluated parameters. The experiment was implanted in a completely randomized experimental design with 12 replicates. Data were submitted to ANOVA and the means were compared by the Duncan test (p  $\leq 0.05$ ). The eggs of the hosts exposed to different exposure times provided good embryonic development of T. pretiosum lineages, which favors the performance of parasitoids under laboratory conditions.

**Keywords:** Parasitoids of eggs. Exposure period. Biological parameters. Biological control.

# 1 INTRODUÇÃO

Trichogramma é o maior gênero da família Trichogrammatidae, com mais de 230 espécies descritas, em que 28 delas são registradas no Brasil. *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) destaca-se entre as espécies pertencentes ao gênero, sendo a mais utilizada no mundo, em função da facilidade de criação e agressividade quanto ao controle de ovos de lepidópteros-praga, visto que, é uma espécie generalista (ZUCCHI *et al.*, 2010; PARRA *et al.*, 2015; NOYES, 2016; QUERINO *et al.*, 2017).

Em programas de controle biológico é essencial selecionar linhagens de *Trichogramma* com comportamento mais "agressivo" aos hospedeiros. A seleção baseia-se nas características biológicas, como exemplo, capacidade de parasitismo, emergência, duração do ciclo de desenvolvimento, razão sexual e longevidade proporcionada pela linhagem do parasitoide (VIANNA *et al.*, 2011; FORESTI *et al.*, 2012). A identificação e a seleção de linhagens e/ou espécies de *Trichogramma* isolados da região de estudo são fundamentais para o sucesso de liberações inundativas do inimigo natural visando o controle do inseto-praga (ZAGO *et al.*, 2010; OLIVEIRA, 2017).

O comportamento de procura e parasitismo pode ser um fator inerente ao parasitoide ou estar relacionado a fatores como a influência da genética da espécie/linhagem ou ser resultado da experiência adquirida pelo mesmo (BESERRA & PARRA, 2003). O tempo gasto pela fêmea para localizar o hospedeiro afeta a reprodução e consequentemente o desenvolvimento (OLIVEIRA *et al.*, 2000).

Durante o processo de seleção hospedeira, algumas fêmeas de *Trichogramma* spp. apresentam comportamento exploratório antes da aceitação do hospedeiro. As mesmas pousam no hospedeiro e fazem contato superficial, por meio das antenas e caminhamento, visando o reconhecimento do mesmo. A maior parte do tempo gasto no processo de oviposição é o de reconhecimento do hospedeiro (BENTO & NARDI, 2009). Dessa forma, o tempo de exposição ao hospedeiro é um dos fatores primordiais para a verificação do desempenho dos parasitoides. O tempo de exposição ao parasitismo pode afetar a qualidade nutricional das fêmeas, o parasitismo, a razão sexual, o número de parasitoides emergidos por hospedeiro, a longevidade e a duração do ciclo de vida (BARBOSA *et al.* 2008; BARBOSA *et al.* 2010; PASTORI *et al.*, 2012; VARGAS *et al.*, 2017).

No tempo em que o parasitoide se encontra em contato com o hospedeiro, o mesmo pode aceitá-lo ou rejeitá-lo. A atividade das linhagens/espécies de *Trichogramma* spp. pode variar com o hospedeiro utilizado, pois características como tamanho do ovo, qualidade

nutricional, espessura do córion e forma de postura podem afetar a qualidade, bem como as características biológicas da progênie (RORIZ *et al.*, 2006; RUKMOWATI-BROTODJOJO & WALTER, 2006).

Diante do exposto objetivou-se, avaliar o desempenho de duas linhagens de *Trichogramma* coletadas na região da Serra da Ibiapaba, Estado do Ceará, sob diferentes tempos de exposição aos hospedeiros *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), *Neoleucinodes elegantalis* Guenée (Lepidoptera: Crambidae) e *Spodoptera frugiperda* J E Smith (Lepidoptera: Noctuidae).

### 2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Entomologia Aplicada (LEA) da Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, Ceará. Foram utilizadas duas linhagens de *T. pretiosum* (Ubajara e Guaraciaba) coletadas naturalmente parasitando ovos de *N. elegantalis* em frutos de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) em áreas comerciais na região da Serra da Ibiapaba, Ceará. A primeira linhagem foi coletada na zona rural do município de Ubajara em condições de cultivo de tomateiro no sistema convencional e a segunda no município de Guaraciaba do Norte em condições de cultivo de tomateiro no sistema orgânico. O município de Ubjara está situado a uma latitude de 3°51′S, longitude 40°55′W e uma altitude média de 847.5 m acima do nível do mar, com temperatura máxima de 27,3°C e mínima de 16,0°C. O município de Guaraciaba do Norte está situado a uma latitude de 4°10′S, longitude 40°44′W e uma altitude média de 902.4 m acima do nível do mar, com temperatura máxima de 26,6°C e mínima de 15,6°C. A identificação prévia dos parasitoides foi feita pelo *D. Sc.* Fabricio Fagundes Pereira e ratificada/confirmada pela *D. Sc.* Ranyse Barbosa Querino da Silva.

O experimento foi realizado com ovos dos hospedeiros *A. kuehniella*, *N. elegantalis* e *S. frugiperda*. As densidades de fêmeas/hospedeiros foram definidas em experimentos prévios. Para a linhagem 1 (Ubajara) foram utilizadas: 6 fêmeas para 23 ovos de *A. kuehniella*; 8 fêmeas para 22 ovos de *N. elegantalis* e 7 fêmeas do parasitoide para 28 ovos de *S. frugiperda*. Para a linhagem 2 (Guaraciaba), 7 fêmeas foram utilizadas para 35 ovos de *A. kuehniella*; 7 fêmeas e 41 ovos de *N. elegantalis* e 6 fêmeas para 13 ovos do hospedeiro *S. frugiperda*.

# 2.1 Desempenho de duas linhagens de *T. pretiosum* em ovos de diferentes hospedeiros sob diferentes tempos de exposição

Com o auxílio de um pincel umedecido, os ovos de cada hospedeiro foram colados nas cartelas de cartolina azul celeste (8,0 x 2,5 cm) usando goma arábica (30%). As cartelas foram inseridas em tubos de vidro (8,5 x 2,5 cm) e logo após foram liberadas as fêmeas parasitoides nas respectivas densidades para cada tratamento. As fêmeas parasitoides foram alimentadas com uma gotícula de mel puro colocada na parede dos tubos. Os tubos foram fechados com filme plástico PVC® para evitar a fuga dos parasitoides. Os ovos foram expostos ao parasitismo por 6, 12, 24 ou 48 horas, e após esse período, as cartelas foram transferidas para novos tubos de vidro (8,5 x 2,5 cm) e os mesmos acondicionados em condições controladas de 25 ± 2°C, umidade relativa de 70 ± 10% e fotoperíodo de 12 horas, permanecendo até a emergência da geração seguinte dos parasitoides. Os ovos de *A. kuehniella*, bem como de *S. frugiperda*, antes de oferecidos aos parasitoides, foram inviabilizados pela exposição à lâmpada germicida pelo período de 40 e 50 minutos, respectivamente, devido a estas espécies apresentarem habito canibal. Ovos de *N. elegantalis* não foram inviabilizados.

A porcentagem de parasitismo [(Número de ovos parasitados/número total de ovos) x 100]; a porcentagem de emergência [(Número de ovos escuros com orifício /número total de ovos parasitados) x 100]; a razão sexual [Número de fêmeas emergidas/ (Número de fêmeas + machos)]; o número de parasitoides emergidos por ovo [(Número de parasitoides emergidos/número total de ovos parasitados); a longevidade (dias) de machos e de fêmeas e a duração do ciclo (ovo-adulto) foram os parâmetros avaliados. O experimento foi implantado em delineamento experimental inteiramente casualizado com 12 repetições. Os dados foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Duncan ( $p \le 0.05$ ).

#### 3 RESULTADOS

A maior capacidade de parasitismo de *T. pretiosum* das linhagens Ubajara e Guaraciaba foi de 90,6% e 94,5%, respectivamente quando expostos aos ovos de *A. kuehniella* por 24 horas (Figura 1). Quando comparado à porcentagem de parasitismo entre as linhagens, Guaraciaba proporcionou 85,7% em 12 horas, e Ubajara 83,7% em 48 horas de exposição (Figura 1).

No que se refere à emergência, as menores porcentagens foram observadas quando os ovos de *A. kuehniella* foram expostos por 48 horas aos parasitoides da linhagem Ubajara (94,9%) e Guaraciaba (95,9%) (Figura 1).

Verificaram-se diferenças significativas na razão sexual, apenas no tempo de 12 horas de exposição para as duas linhagens estudadas (Figura 1). A média entre os tratamentos foi de 0,64 para Ubajara e 0,61 para Guaraciaba. A linhagem Ubajara apresentou maior proporção de fêmeas (0,69) quando comparada a Guaraciaba (0,58) em 12 horas de exposição (Figura 1).

No que se refere ao número de parasitoides emergidos por ovo, houve emergência de 1,0 parasitoide/ovo para todos os tratamentos, com exceção dos parasitoides provenientes da linhagem Guaraciaba (0,95) expostos aos ovos de *A. kuehniella* por 48 horas (Figura 1). No que concerne ao ciclo de ovo-adulto, à linhagem Ubajara apresentou 9,6 dias em 6 horas, e 9,5 dias em 12 horas de exposição, respectivamente. A linhagem Guaraciaba obteve 9,1 dias nos mesmos tempos citados anteriormente (Figura 1).

Quanto à longevidade de fêmeas, os menores valores foram observados em 24 horas de exposição para a linhagem Guaraciaba (3,4 dias) e em 48 horas de exposição para linhagem Ubajara (3,6 dias), e 2,6 dias para Guaraciaba no mesmo tempo de exposição. Obteve-se longevidade superior a 5,0 dias para os demais tempos em ambas as linhagens (Figura 1).

A maior longevidade de machos foi observada em 24 horas de exposição para a linhagem Ubajara (5,0 dias), sendo superior a Guaraciaba (2,0 dias) no mesmo tempo de exposição. Quando se comparou os tempos de exposição (6, 12 e 48 horas) para a linhagem Guaraciaba, não se verificou diferença significativa (Figura 1).

A porcentagem de parasitismo de *T. pretiosum* linhagem Guaraciaba foi maior em 24 horas de exposição ao hospedeiro *N. elegantalis* (95,4%) em relação ao mesmo tempo para a linhagem Ubajara (86,7%). Não houveram diferenças significativas entre os tempos de exposição para a linhagem Ubajara (Figura 2).

Constatou-se percentuais de emergência acima de 90% para as linhagens Ubajara e Guaraciaba, exceto para o tempo de 48 horas de exposição, no qual, a linhagem Ubajara indicou 87,5% e Guaraciaba 88,9% (Figura 2).

Em relação à razão sexual, somente a linhagem Guaraciaba (0,38) em 48 horas de exposição não apresentou valor superior a 0,50 diferindo significativamente da linhagem Ubajara (0,66) no mesmo tempo (Figura 2).

Quanto ao número de parasitoides emergidos por ovo de *N. elegantalis*, observouse a ocorrência de mais de 1,0 no tempo de 6 e 24 horas na linhagem Ubajara, e a predominância de 1,0 parasitoide no tratamento 6 horas para a linhagem Guaraciaba (Figura 2).

A duração do ciclo não foi influenciada pelos tempos de exposição parasitoide/hospedeiro, apresentando valores médios de 9,3 para a linhagem Ubajara e 9,2 dias para Guaraciaba (Figura 2).

A longevidade das descendentes fêmeas de *T. pretiosum* linhagem Ubajara foi maior em 12 horas de exposição (5,6 dias). Para Guaraciaba não verificou-se diferença significativa entre os tempos utilizados (Figura 2).

Em 48 horas de exposição constatou-se maior longevidade de machos (4,6) na linhagem Ubajara. No entanto, não verificou-se influência dos tempos na obtenção de progênies machos provenientes da linhagem Guaraciaba (Figura 2).

A linhagem de *Trichogramma* proveniente de Ubajara não apresentou diferença na porcentagem de parasitismo quando exposta a diferentes tempos aos ovos de *S. frugiperda* (Figura 3). A menor porcentagem de parasitismo (79,7%) da linhagem Guaraciaba foi obtida em 48 horas de exposição. Levando-se em consideração o tempo de 6 e 12 horas, a linhagem Guaraciaba apresentou as maiores taxas, 89,3% e 87,8%, respectivamente, quando comparada à linhagem Ubajara (72,4% e 71,7%) nas mesmas condições (Figura 3).

Para o percentual de emergência, a maioria dos tempos de exposição proporcionaram valores superiores a 90% para duas linhagens de *Trichogramma*. Para Ubajara, a menor porcentagem (85,0%) foi obtida em 12 horas, diferindo da linhagem Guaraciaba (100,0%) (Figura 3).

A razão sexual diferiu apenas em 6 horas de exposição quando comparado aos valores obtidos entre a linhagem Ubajara (0,57) e a linhagem Guaraciaba (0,71). Todos os tratamentos propiciaram valores acima de 0,50. Para as linhagens Ubajara e Guaraciaba, a razão sexual variou de 0,56 a 0,70 (48 e 24 horas) e 0,56 a 0,71 (12 e 6 horas), nessa ordem (Figura 3).

Para o número de parasitoides emergidos por ovo, os maiores valores foram observados na linhagem Guaraciaba, no qual todos os tratamentos apresentaram emergência de mais de 1,0 parasitoide, sendo tal linhagem significativamente superior à linhagem Ubajara em 12 e 48 horas de exposição (Figura 3).

A duração do ciclo de *T. pretiosum* linhagem Guaraciaba diferiu da linhagem Ubajara nos tempos de 6, 12 e 24 horas de exposição, com 9,0, 9,2 e 9,0 dias, respectivamente (Figura 3).

A maior longevidade de fêmeas e de machos para as linhagens Ubajara (8,0 e 4,7) e Guaraciaba (8,3 e 5,6 dias) foi obtida em 24 horas de exposição (Figura 3).

Figura 1. Porcentagem de parasitismo (Média  $\pm$  erro padrão); Porcentagem de emergência (Média  $\pm$  erro padrão); Razão sexual (Média  $\pm$  erro padrão); Número de adultos emergidos por ovo (Média  $\pm$  erro padrão); Duração do ciclo (Média  $\pm$  erro padrão) e; Longevidade (Médias  $\pm$  erro padrão) (Dias) de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) linhagens Ubajara e Guaraciaba por ovo de *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) em diferentes tempos de exposição. Médias seguidas por mesma letra minúscula na horizontal e maiúscula na vertical, não diferem entre si, pelo teste de Duncan (p  $\leq$ 0,05)

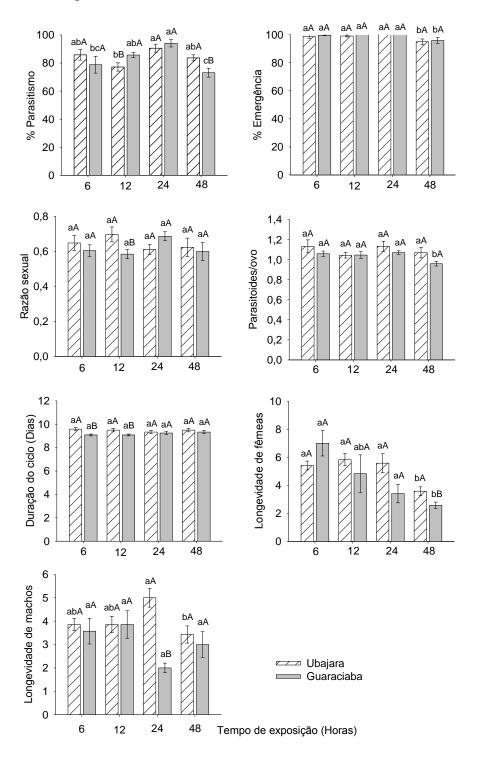


Figura 2. Porcentagem de parasitismo (Média  $\pm$  erro padrão); Porcentagem de emergência (Média  $\pm$  erro padrão); Razão sexual (Média  $\pm$  erro padrão); Número de adultos emergidos por ovo (Média  $\pm$  erro padrão); Duração do ciclo (Média  $\pm$  erro padrão) e; Longevidade (Médias  $\pm$  erro padrão) (Dias) de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) linhagens Ubajara e Guaraciaba por ovo de *Neoleucinodes elegantalis* Guenée (Lepidoptera: Crambidae) em diferentes tempos de exposição. Médias seguidas por mesma letra minúscula na horizontal e maiúscula na vertical, não diferem entre si, pelo teste de Duncan (p  $\leq$ 0,05)

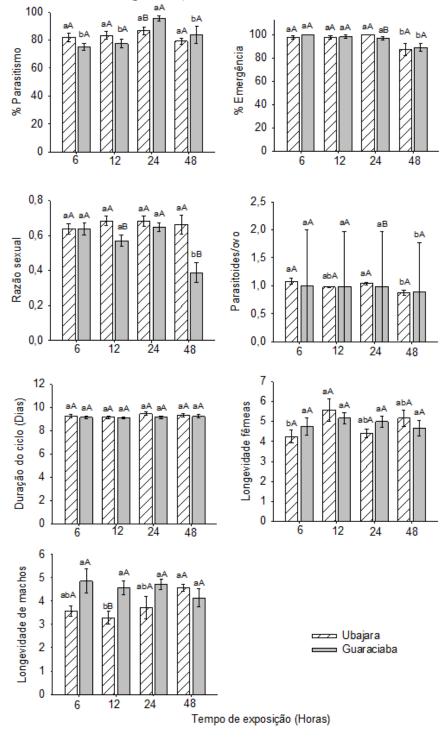
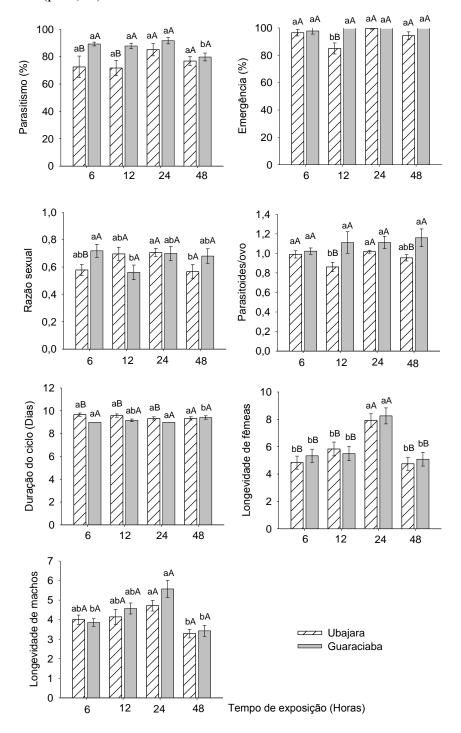


Figura 3. Porcentagem de parasitismo (Média  $\pm$  erro padrão); Porcentagem de emergência (Média  $\pm$  erro padrão); Razão sexual (Média  $\pm$  erro padrão); Número de adultos emergidos por ovo (Média  $\pm$  erro padrão); Duração do ciclo (Média  $\pm$  erro padrão) e; Longevidade (Médias  $\pm$  erro padrão) (Dias) de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) linhagens Ubajara e Guaraciaba por ovo de *Spodoptera frugiperda* J E Smith (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes tempos de exposição. Médias seguidas por mesma letra minúscula na horizontal e maiúscula na vertical, não diferem entre si, pelo teste de Duncan (p  $\leq$ 0,05)



# 4 DISCUSSÃO

O tempo de exposição interferiu na porcentagem de parasitismo dos ovos de todos os hospedeiros utilizados. O tempo de exposição ao hospedeiro é um dos fatores primordiais para a verificação do desempenho do parasitoide, visto que, antes de efetuar a oviposição visando o parasitismo e consequentemente a perpetuação da espécie, as fêmeas de *Trichogramma* spp. apresentam uma sequência de comportamentos: Deslocamento à procura do hospedeiro; caminhamento sobre o hospedeiro encontrado objetivando contato superficial por meio das antenas; repouso, no qual o parasitoide permanece imóvel sobre o hospedeiro; inserção do ovipositor, e, efetiva oviposição, tempo que o inimigo natural permanece realizando a postura (MOREIRA *et al.*, 2009; BENTO & NARDI, 2009).

Outros autores comprovaram a influência do tempo de exposição na taxa de parasitismo de linhagens de *T. pretiosum*. A porcentagem de parasitismo aumentou linearmente em relação ao tempo de exposição de *T. pretiosum* linhagem G18 ao hospedeiro bicho-furão *Ecdylotopha aurantiana* Lima (Lepidoptera: Tortricidae) (MOLINA, 2003). *T. pretiosum* expostos a ovos de *S. frugiperda* por 1, 3 e 4 horas, apresentaram uma menor taxa de parasitismo, quando comparadas a fêmeas expostas por 5, 6 e 24 horas (VARGAS *et al.*, 2017).

As menores taxas de emergência foram observadas quando ovos de *A. kuehniella* e *N. elegantalis* foram expostos a 48 horas de exposição aos parasitoides das linhagens Ubajara e Guaraciaba, o que pode estar relacionado ao superparasitismo. Superparasitismo é um processo comum em espécies de *Trichogramma* (YADAV *et al.*, 2001). Em hospedeiros, como *A. kuehniella* geralmente ocorre o desenvolvimento de um parasitoide por ovo, porém mais de um ovo parasitoide pode ser inicialmente depositado por hospedeiro (KLOMP & TERRINK, 1978), principalmente se o parasitoide permaneceu por maior tempo em contato com o mesmo, o que pode resultar em altas taxas de parasitismo, porém em função da competição larval ocorre menor taxa de emergência (CORRIGAN *et al.*, 1995). Em situações em que o parasitoide esteja confinado ao hospedeiro por um tempo maior de exposição, pode haver um estímulo em que o mesmo continue o processo de parasitismo em função do maior tempo de contato com o ovo do inseto-praga (COSTA, 2013).

Observou-se percentual de emergência acima de 90% na maioria dos tempos de exposição para as duas linhagens de *Trichogramma*. As características do hospedeiro, como tamanho e volume do ovo, estrutura do córion e qualidade do mesmo, podem influenciar não apenas no tempo de manuseio e exploração por *Trichogramma* spp., mas também na

suscetibilidade do hospedeiro, assim como no desenvolvimento do parasitoide (CÔNSOLI *et al.*, 1999; PASTORI *et al.*, 2012).

As duas linhagens estudadas apresentaram razão sexual acima de 0,50 em ovos de *A. kuehniella* e *S. frugiperda*. A razão sexual é um parâmetro importante em criações massais de parasitoides, experimentos de laboratório, e seleção dos inimigos naturais visando execução de trabalhos em condições de campo, visto que são as fêmeas as responsáveis pela oviposição e consequentemente a geração subsequente (NAVARRO, 1998).

A linhagem Guaraciaba exposta a ovos de *N. elegantalis* por 48 horas mostrou que a taxa de fêmeas na prole diminuiu em função do tempo de exposição. Tal fato pode estar também atribuído ao superparasitismo, em função do maior tempo de contato parasitoide/hospedeiro (BARBOSA *et al.* 2008) aliado ao tamanho do ovo do mesmo (BARBOSA *et al.*, 2010) e idade das fêmeas, pois a medida que as fêmeas se tornam mais velhas, as mesmas tendem a colocar maior número de ovos que darão origem a machos (HOUSEWEART *et al.*, 1983; HOFFMANN *et al.*, 1995).

Em relação ao número de descendentes/ovo, houve emergência de pelo menos 1,0 parasitoide nas linhagens provenientes de ovos de *A. kuehniella* e da linhagem Guaraciaba em ovos de *S. frugiperda*. A emergência de apenas 1,0 parasitoide/ovo é vantajoso em programas de controle biológico, pois mais nutrientes estarão disponíveis para assimilação e desenvolvimento do inimigo natural, o que resulta em indivíduos com maior tamanho e consequentemente mais competitivos (BESERRA *et al.*, 2003).

Nos parasitoides provenientes do hospedeiro *N. elegantalis* somente houve presença de um parasitoide/ovo nos tempos de 6 e 24 horas para linhagem Ubajara e 6 horas linhagem Guaraciaba. Para a relação *S. frugiperda*/linhagem Ubajara observou-se emergência de 1,0 parasitoide em 24 horas de exposição ao hospedeiro. Tais resultados comprovam a existência de superparasitismo, uma vez que, para todos os tempos citados observou-se taxas de parasitismo acima de 70%.

Quanto ao ciclo, as duas linhagens estudadas tiveram desempenho semelhante com ciclo médio de 9 dias nos hospedeiros estudados. Houve adaptação das linhagens de parasitoides aos hospedeiros utilizados, em termos de quantidade e qualidade de nutrientes disponíveis, indicando que não houve competição entre os imaturos, a ponto de reduzir o tempo de desenvolvimento (ovo-adulto) do parasitoide (BRODEUR & BOIVIN, 2004). As variações na duração do ciclo de vida do parasitoide podem estar relacionadas à aceitabilidade do inimigo natural às espécies hospedeiras (PEREIRA *et al.*, 2010).

Para a maioria dos tempos de exposição/linhagens verificou-se longevidade de fêmeas superior a 4 dias. Insetos mais longevos são essenciais, pois podem apresentar maior eficiência em campo e maior capacidade de parasitar mais hospedeiros (PRATISSOLI *et al.*, 2007). A maior longevidade de adultos favorece o transporte dos inimigos naturais das biofábricas para os locais de liberação (CHICHERA *et al.*, 2012). Em geral fêmeas de *Trichogramma* spp. são mais longevas que os machos, posto que, as fêmeas se alimentam do líquido que sai do córion no local perfurado pelo ovipositor (BLEICHER & PARRA, 1991), e os machos apenas do néctar em condições de campo, e de mel em laboratório (MELLO & AGUIAR-COELHO, 2009).

## 5 CONCLUSÃO

Os ovos dos hospedeiros expostos a diferentes tempos de exposição proporcionaram bom desenvolvimento embrionário das linhagens de *T. pretiosum*, o que favorece o desempenho dos parasitoides em condições de laboratório.

# REFERÊNCIAS

- BARBOSA, L. S.; COURI, M. S.; AGUIAR COELHO, V. M. Desenvolvimento de *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas de *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775) (Diptera: Calliphoridae), utilizando diferentes densidades do parasitoide. **Biota Neotropica**, v. 8, p. 49-54, 2008.
- BARBOSA, L. S.; COURI, M. S.; COELHO, V. M. A. Desempenho do parasitoide *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera, Pteromalidae) utilizando como hospedeiro *Cochliomyia macellaria* (Fabricius) (Diptera, Calliphoridae), sob diferentes tempos de exposição. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 54, p. 125-129, 2010.
- BENTO, J. M. S.; NARDI, C. Bioecologia e nutrição vs ecologia química: as interações multitróficas mediadas por sinais químicos. In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. (Org.). **Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p. 277-296, 2009.
- BESERRA, E. B.; DIAS, C. T. S.; PARRA, J. R. P. Características biológicas de linhagens de *Trichogramma pretiosum* desenvolvidas em ovos de *Spodoptera frugiperda*. **Acta Scientiarum**, v. 25, p. 479-483, 2003.
- BESERRA, E. B.; PARRA, J. R. P. Comportamento de parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em posturas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 47, p. 205-209, 2003.
- BLEICHER, E.; PARRA, J. R. P. Efeito do hospedeiro de substituição e da alimentação na longevidade de *Trichogramma* spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, p. 1845- 1850, 1991.
- BRODEUR, J.; BOIVIN, G. Functional ecology of immature parasitoids. **Annual Review of Entomology**, v. 49, p. 27-49, 2004.
- CÔNSOLI, F. L.; WKITAJIMA, E.; PARRA, J. R. P. Ultrastructure of the natural and factitious host eggs of *Trichogramma galloi* Zucchi and *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **International Journal of Insect Morphology and Embryology**, v. 28, p. 211-229, 1999.
- CORRIGAN, J. E.; LAING, J. E.; ZUBRICKY, J. S. Effects of parasitoid to host ratio and time of day of parasitism on development and emergence of *Trichogramma minutum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitizing eggs of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) **Annals of the Entomological Society of America**, v. 88, p. 773-780, 1995.
- CHICHERA, R. A.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; BARBOSA, R. H.; PASTORI, P. L.; ROSSONI, C. Capacidade de busca e reprodução de *Trichospilus diatraeae* e *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Interciencia**, v. 37, p. 852-856, 2012.
- COSTA, D. P. 2013. Interações biológicas entre *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera:

- Eulophidae) e *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) no parasitismo de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. 82 p. Tese (Doutorado em Agronomia) Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2013.
- FORESTI, J.; GARCIA, M. S.; BERNARDI, O.; ZART, M.; NUNES, A. M. Biologia, seleção e avaliação de linhagens de *Trichogramma* spp. para o controle da lagarta-da-espiga em milho semente. **EntomoBrasilis**, v. 5, p.1-6, 2012.
- HOFFMANN, M. P.; WALKER, D. L.; SHELTON, A. M. Biology of *Trichogramma ostriniae* (Hym.: Trichogrammatidae) reared on *Ostrinia nubilalis* (Lep.: Pyralidade) and survey for additional hosts. **Entomophaga**, v. 40, p. 387-402, 1995.
- HOUSEWEART, M. W.; JENNINGS, D.T.; WELTY, C.; SOUTHARD, S. G. Progeny production by *Trichogramma minutum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) utilizing eggs for *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae) and *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Canadian Entomology**, v. 115, p. 1245-1252, 1983.
- KLOMP, H.; TEERINK, B. J. The elimination of supernumerary larvae of the gregarious eggparasitoid *Trichogramma embryophagum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in eggs of the host *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Entomophaga**, v. 23, p. 153-159, 1978.
- MELLO, R. S; AGUIAR-COELHO, V. M. Durations of immature stage development period of Nasonia vitripennis (Walker) (Hymenoptera, Pteromalidae) under laboratory conditions: implications for forensic entomology. **Parasitology Research**, v. 104, p. 411-418, 2009.
- MOLINA, R. M. S. 2003. **Bioecologia de duas espécies de** *Trichogramma* para o controle de *Ecdytolopha aurantiana* (Lima, 1927) (Lepidoptera: Tortricidae) em citros. 80 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.
- MOREIRA, M. D.; SANTOS, M. C. F.; BESERRA, E. B.; TORRES, J. B.; ALMEIDA, R. P. Parasitismo e superparasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Sitotroga cerealella* (Oliver) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Neotropical Entomology**, v. 2, p. 237-242, 2009.
- NAVARRO, A. M. *Trichogramma* spp.: producción, uso y manejo en Colombia. Guadalajara de Buga: Impretec, 176p., 1998.
- NOLDUS, L. P. J. J. Semiochemicals, foranging behavioral and quality of entomophagous insects for biological control. **Journal of Applied Entomology**, v. 108, p. 425-451, 1989.
- NOYES, J. S. **Universal Chalcidoidea Database**. 2016. Disponível em: <a href="http://www.nhm.ac.uk/research-curation/projects/chalcidoids/">http://www.nhm.ac.uk/research-curation/projects/chalcidoids/</a>>. Acesso em 22 de abril 2018.
- OLIVEIRA, H. N.; ZANUNCIO, J. C.; PRATISSOLI D.; CRUZ I. Parasitism rate and viability of *Trichogramma maxacalii* (Hym.: Trichogrammatidae) parasitoid of the Eucaliptus defoliator *Euselasia apison* (Lepidoptera: Riodinidae), on eggs of *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Forest Ecology and Management**, v. 130, p. 1-6, 2000.
- OLIVEIRA, R. C. M. 2017. *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae): Parasitismo natural em broca-pequena-do-tomateiro e dispersão

- **em repolho, pepino e milho verde**. 60 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, 2017.
- PARRA, J. R. P., ZUCCHI, R. A., COELHO JR., A., GEREMIAS, L. D., CÔNSOLI, F.L. *Trichogramma* as a tool for IPM in Brazil. p. 472-496. In: VINSON, B., GREENBERG, S.M., LIU, T., RAO, A., VOLOSCIUK, L.F., eds., **Augmentative Biological Control using** *Trichogramma* spp.: Current Status and Perspectives. Northwest A&F University Press, China, 2015.
- PASTORI, P. L.; PEREIRA, F. F.; ANDRADE, G. S.; SILVA, R. O.; ZANUNCIO, J. C.; PEREIRA, A. I. A. Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) in pupae of two lepidopterans defoliators of eucalypt. **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 38, p. 91-93, 2012.
- PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, T. V.; PRATISSOLI, D.; PASTORI, P. L. The density of females of the *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). **Anais da Acadadêmia Brasileira de Ciências**, v. 81, p. 323-331, 2010.
- PRATISSOLI, D.; POLANCZYK, R. A.; ANDRADE, G. S.; HOLTZ, A. M.; SILVA, A. F.; PASTORI, P. L. Tabela de vida de fertilidade de cinco linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym.: Trichogrammatidae) criadas em ovos de *Tuta absoluta* (Merick) (Lep.: Gelechiidae), sob temperaturas constantes e alternadas. **Ciência Rural**, v. 37, p. 618-622, 2007.
- QUERINO, R. B.; MENDES, J. V.; COSTA, V. A.; ZUCCHI, R. A. New species, notes and new records of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in Brazil. **Zootaxa**, v. 4232, p. 137-143, 2017.
- RORIZ, V.; OLIVEIRA, L.; GARCIA, P. Host suitability and preference studies of *Trichogramma cordubensis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Biological Control**, v. 36, p. 331-336, 2006.
- RUKMOWATI-BROTODJOJO, R. R.; WALTER, G. H. Oviposition and reproductive performance of a generalist parasitoid (*Trichogramma pretiosum*) exposed to host species that differ in their physical characteristics. **Biological Control**, v. 39, p. 300-312, 2006.
- VARGAS, C. C.; REDAELLI, L. R.; SANT'ANA, J.; MORAIS, R. M.; PADILHA. P. Influência da idade do hospedeiro e da aprendizagem no comportamento quimiotáxico e no parasitismo de *Trichogramma pretiosum*. **Iheringia, Série Zoologia**, v. 107, p. 1-7, 2017.
- VIANNA, U. R.; PRATISSOLI, D.; ZANUNCIO, J. C..; ALENCAR, J. R. C. C.; ZINGER, F. D. Espécies e/ou linhagens de *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, p.81-87, 2011.
- WYLIE, H. G. Survival and reproduction of *Nasonia vitripennis* (Walker) on different host population densities. **The Canadian Entomologist,** v. 98, p. 273-286, 1996.

- YADAV, R. C.; SINGH, S. P.; JALALI, S. K.; RAO, N. S. Effect of host egg density on parasitism and adult emergence in *Trichogramma chilonis* Ishii (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in two systems. **Journal of Biological Control**, v. 15, p.11-14, 2001.
- ZAGO, H. B.; BARROS, R.; TORRES, J. B.; PRATISSOLI, D. Distribuição de ovos de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) e o parasitismo por *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera:Trichogrammatidae). **Neotropical Entomology**, v. 39, p. 241-247, 2010.
- ZUCCHI, R. A.; QUERINO, R. B.; MONTEIRO, R. C. Diversity and hosts of *Trichogramma* in the New World, with emphasis in South America. In: CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Org.). **Egg parasitoids in Agroecosystems with emphasis on** *Trichogramma*. Dordrecht: Springer, cap 8, p. 219-236, 2010.

5 EXIGÊNCIAS TÉRMICAS DE LINHAGENS DE Trichogramma pretiosum RILEY (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) EM OVOS DE Neoleucinodes elegantalis GUENÉE (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

#### **RESUMO**

O sucesso de programas de controle biológico com a utilização de parasitoides depende de vários fatores, dentre eles ressalta-se o conhecimento da influência das condições climáticas na biologia do inimigo natural. Objetivou-se com este estudo, avaliar o impacto da temperatura no desenvolvimento de duas linhagens de Trichogramma pretiosum Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) determinando-se assim as exigências térmicas dos parasitoides em ovos de Neoleucinodes elegantalis Guenée (Lepidoptera: Crambidae). O experimento foi realizado no Laboratório de Entomologia Aplicada (LEA) da Universidade Federal do Ceará (UFC) com duas linhagens (Ubajara-CE e Guaraciaba-CE) de T. pretiosum coletadas naturalmente parasitando ovos de N. elegantalis em frutos de tomateiro (Solanum lycopersicum L.) em áreas comerciais. Foram utilizados 40 ovos do hospedeiro e 4 fêmeas dos parasitoides expostas ao parasitismo por 24 horas à 25 ± 1°C, umidade relativa de 70 ± 10% e fotofase de 12 horas. Ao final deste período, as fêmeas foram retiradas, e os tubos foram transferidos para câmara climatizada regulada para umidade relativa de 70 ± 10%, fotofase de 12 horas e expostos às temperaturas de 15, 20, 25, 30 ou 35°C, permanecendo até a emergência da geração seguinte dos parasitoides. A porcentagem de emergência; a razão sexual; o número de parasitoides emergidos por ovo e a duração do ciclo (ovo-adulto) foram os parâmetros avaliados. Os experimentos foram instalados em delineamento experimental inteiramente casualizado com 5 tratamentos (temperaturas) e 12 repetições. Os dados foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Duncan a (p ≤0,05). Com a avaliação das características biológicas dos parasitoides procedeu-se a determinação das exigências térmicas das linhagens de T. pretiosum, e estimou-se o número provável de gerações anuais. A temperatura base foi de 10,77°C e 10,86°C, e o número de gerações anuais de 33,29 e 35,63 para Ubajara e Guaraciaba, respectivamente. A temperatura alterou os parâmetros biológicos, sendo a duração do ciclo das linhagens Ubajara e Guaraciaba decrescente com o aumento da mesma.

**Palavras-chave**: Broca-pequena-do-tomateiro. Parasitoides de ovos. Requerimentos térmicos. Parâmetros biológicos. Temperatura base.

#### **ABSTRACT**

The success of biological control programs with the use of parasitoids depends on several factors, among them stands out the knowledge of the influence of climatic conditions on the development of the natural enemies. The objective of this study was to evaluate the impact of temperature on the biology of two lineages of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), thus determining the thermal requirements of parasitoids in Neoleucinodes elegantalis Guenée (Lepidoptera: Crambidae) eggs. The experiment was carried out at the Laboratory of Applied Entomology (LEA) of the Federal University of Ceará (UFC) with two lineages of T. pretiosum (Ubajara-CE and Guaraciaba-CE) collected naturally parasitizing eggs of N. elegantalis in tomato fruits (Solanum lycopersicum L.) in commercial areas. Fourty eggs of the host and four females of parasitoids exposed to parasitism for 24 hours at 25  $^{\circ}$  C, relative humidity of 70  $\pm$  10% and 12-hour photophase. At the end of this period, the females were removed, and the tubes were transferred to a incubators regulated at a relative humidity of  $70 \pm 10\%$ , photophase of 12 hours and exposed to temperatures of 15, 20, 25, 30 or 35 ° C, remaining until the emergence of the next generation of parasitoids. The following parameters were evaluated: emergency percentage; sexual reason; number of parasitoids emerged per egg and cycle duration (egg-adult). The experiments were installed in a completely randomized experimental design with 5 treatments (temperatures) and 12 replicates. The data were submitted to ANOVA and the means were compared by Duncan's test (p  $\leq$ 0.05). With the evaluation of the biological characteristics of the parasitoids, the thermal requirements of T. pretiosum lineages were determined and the estimated number of annual generations. The base temperature was 10.77 ° C and 10.86 ° C, and the number of annual generations of 33.29 and 35.63 for Ubajara and Guaraciaba, respectively. The temperature altered the biological parameters, being the cycle length of the Ubajara and Guaraciaba lineages decreasing with the increase of the same.

**Keywords:** Tomato fruit borer. Parasitoids of eggs. Thermal requirements. Biological parameters. Base temperature.

# 1 INTRODUÇÃO

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é uma hortaliça de importância econômica e social, devido ao volume, produção e geração de empregos (BARROS *et al.*, 2014; GOMES & CASTRO, 2017). No Brasil, o tomate é cultivado em todas as regiões brasileiras, ocupando no total uma área de 63.300 hectares (IBGE, 2017).

A produção de tomate é uma atividade que exige elevado investimento de recursos financeiros, devido à grande susceptibilidade a desordens fisiológicas, infecção de fitopatógenos, alto investimento em insumos e serviços, e ao ataque de insetos-praga (LOOS et al., 2008).

Dentre as pragas que atacam a cultura do tomate, destaca-se a broca-pequena *Neoleucinodes elegantalis* Guenée (Lepidoptera: Crambidae). Esta é considerada uma das principais pragas da cultura devido aos danos que acarretam aos frutos, deixando os mesmos impróprios para consumo e para processos industriais (GRAVENA & BENVENGA 2003, PICANÇO *et al.*, 2007).

O adulto de *N. elegantalis* oviposita preferencialmente no cálice ou nos frutos verdes de aproximadamente 2 cm de diâmetro. Após a emergência, as larvas penetram e se desenvolvem no interior do fruto, ficando dessa forma protegidas, inviabilizando a adoção de alguns métodos de controle (BEVENGA *et al.*, 2010; FORNAZIER *et al.*, 2010; MOURA *et al.*, 2014).

Em função do hábito do inseto-praga, uma alternativa viável é a utilização de parasitoides do gênero *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), pois esses parasitam os ovos da broca-pequena, impedindo a emergência das lagartas e consequentemente os danos causados por elas (BERTI & MARCANO, 1991).

Os parasitoides do gênero *Trichogramma* são agentes de controle biológico associados a uma vasta gama de hospedeiros, parasitando principalmente ovos de insetos da ordem Lepidoptera. *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) é a espécie mais amplamente distribuída, sendo encontrada frequentemente em diversas partes do mundo (GOULART *et al.*, 2008; WAJNBERG, 2010).

O sucesso de programas de controle biológico com espécies desse gênero de parasitoide depende de vários fatores, dentre estes ressalta-se o conhecimento do potencial da espécie e/ou linhagem a ser utilizada, inseto-praga visado e a influência das condições climáticas na biologia do inimigo natural (PASTORI *et al.*, 2008; MOREIRA *et al.*, 2009).

A escolha da espécie/linhagem é de suma importância, visto que, parasitoides do gênero *Trichogramma* podem apresentar variações genéticas inter e intraespecíficas, ocasionando diferenças no comportamento de busca, seleção hospedeira e tolerância às condições ambientais (PASTORI *et al.*, 2008; SIQUEIRA *et al.*, 2012).

Dessa forma, para garantir o sucesso de liberações inundativas de parasitoides do gênero *Trichogramma* é essencial selecionar a espécie/linhagem mais adaptada ao hospedeiro alvo e às adversidades ambientais (VIANNA *et al.*, 2011; FORESTI *et al.*, 2012).

A temperatura destaca-se entre os fatores abióticos, podendo afetar parâmetros como parasitismo, duração do ciclo, razão sexual e número de parasitoides emergidos (PASTORI *et al.*, 2008; SILVA JÚNIOR, 2009; PAES, 2015). O conhecimento das exigências térmicas possibilita prever e controlar a produção dos parasitoides (PARRA, 1997), pois por meio dessas pode-se determinar a temperatura ótima para o desenvolvimento do inimigo natural e estimar o número de gerações do inseto, possibilitando o planejamento, a produção/multiplicação dos hospedeiros e do parasitoide, permitindo o sincronismo e eficiência da criação (HADDAD *et al.*, 1999; PRATISSOLI & PARRA, 2000).

A estocagem de inimigos naturais em baixas temperaturas é também um fator atribuído ao conhecimento da influência da temperatura no desenvolvimento do parasitoide. Este método possibilita sucesso na criação massal, material constante para utilização em experimentos de laboratório, bem como liberação em campo em épocas de maior ocorrência do inseto-praga visado (CHEN *et al.*, 2008; RODRIGUES & SAMPAIO, 2011;).

Nesse contexto, objetivou-se avaliar o impacto da temperatura na biologia de duas linhagens de *T. pretiosum* determinando-se assim as exigências térmicas dos parasitoides em ovos de *N. elegantalis*.

#### 2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Entomologia Aplicada (LEA) da Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, Ceará. Foram utilizadas duas linhagens de *T. pretiosum* (Ubajara e Guaraciaba) coletadas naturalmente parasitando ovos de *N. elegantalis* em frutos de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) em áreas comerciais na região da Serra da Ibiapaba, Ceará. A primeira linhagem foi coletada na zona rural do município de Ubajara em condições de cultivo de tomateiro no sistema convencional e a segunda no município de Guaraciaba do Norte em condições de cultivo de tomateiro no sistema orgânico. O município de Ubjara está situado a uma latitude de 3°51′S, longitude 40°55′W e uma

altitude média de 847.5 m acima do nível do mar, com temperatura máxima de 27,3°C e mínima de 16,0°C. O município de Guaraciaba do Norte está situado a uma latitude de 4°10'S, longitude 40°44'W e uma altitude média de 902.4 m acima do nível do mar, com temperatura máxima de 26,6°C e mínima de 15,6°C. A identificação prévia dos parasitoides foi feita pelo *D. Sc.* Fabricio Fagundes Pereira e ratificada/confirmada pela *D. Sc.* Ranyse Barbosa Querino da Silva.

# 2.1 Biologia de duas linhagens de *T. pretiosum* expostas a diferentes temperaturas em ovos de *N. elegantalis*

Para a condução do experimento, 40 ovos de *N. elegantalis* foram retirados de frutos de jiló (*Solanum aethiopicum*. L.), com o auxílio de um pincel umedecido, e colados em cartelas de cartolina azul celeste (8,0 x 2,0 cm) usando goma arábica (30%). As cartelas foram inseridas em tubos de vidro (8,5 x 2,5 cm) e após, realizada a liberação de 4 fêmeas de *T. pretiosum* com idade de até 24 horas. As fêmeas foram alimentadas com uma gotícula de mel puro colocada na parede dos tubos. Os tubos foram fechados com filme plástico PVC® para evitar a fuga dos parasitoides. Os ovos foram expostos ao parasitismo por 24 horas à 25  $\pm$  1°C, umidade relativa de 70  $\pm$  10% e fotofase de 12 horas. Ao final deste período, as fêmeas foram retiradas, e os tubos foram transferidos para câmaras climatizadas nas mesmas condições citadas e expostos a 15, 20, 25, 30 ou 35°C, permanecendo até a emergência da geração seguinte dos parasitoides.

A porcentagem de emergência [(Número de ovos escuros com orifício/número total de ovos parasitados) x 100]; a razão sexual [Número de fêmeas emergidas/ (número de fêmeas + machos)]; o número de parasitoides emergidos por ovo [(Número de parasitoides emergidos/número total de ovos parasitados) e a duração do ciclo (ovo-adulto) foram os parâmetros avaliados. O experimento foi implantado em delineamento experimental inteiramente casualizado, com 5 tratamentos (temperaturas) e 12 repetições sendo que cada tubo consistiu em uma repetição. Os dados foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Duncan ( $p \le 0,05$ ). Com a avaliação das características biológicas dos parasitoides procedeu-se a determinação das exigências térmicas das linhagens de T. pretiosum e estimou-se o número provável de gerações anuais por meio da equação:  $NG=\{T(T_m-Tb)/K\}$ , onde: K= constante térmica,  $T_m=$  temperatura média mensal para cada localidade estudada, Tb= temperatura base (°C) e T= tempo (dias).

#### **3 RESULTADOS**

A 35°C não foi observado desenvolvimento dos parasitoides, sendo assim não foi possível a continuidade das análises utilizando essa temperatura visando avaliação das características biológicas dos mesmos, e posterior determinação das exigências térmicas.

A porcentagem de emergência das duas linhagens de *T. pretiosum* foi influenciada pelas temperaturas sendo que, para a linhagem Ubajara, na faixa de 15°C observou-se menor taxa (51,6%). As demais temperaturas proporcionaram porcentagens acima de 80,0% (Tabela 1). Para a linhagem Guaraciaba, 25°C proporcionou taxa de viabilidade de 98,9%. A menor viabilidade foi observada a 15°C (64,9%). Não houve diferença entre as temperaturas quando comparou-se os resultados entre as referidas linhagens (Tabela 1).

A razão sexual da linhagem Guaraciaba variou de 0,54 a 0,73, sendo o menor número de fêmeas observado a 15°C. Não foram observados efeitos da temperatura na razão sexual *T. pretiosum* linhagem Ubajara (Tabela 1).

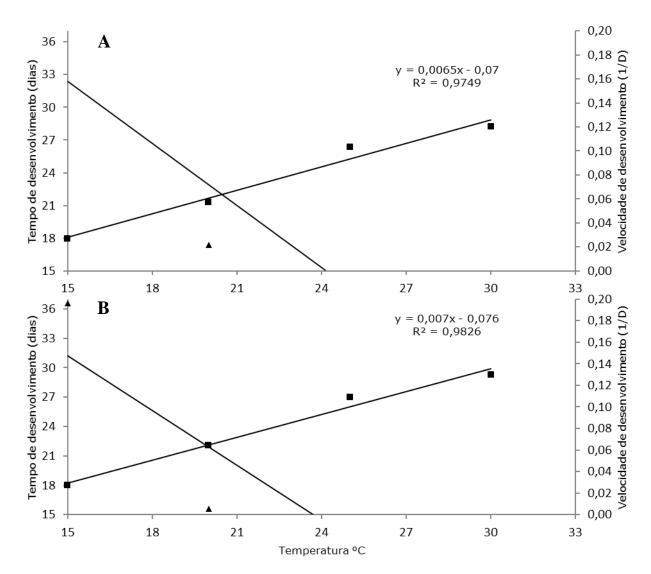
Independente da temperatura e linhagem utilizada observou-se a emergência de 1,0 parasitoide por ovo (Tabela 1). A duração média do ciclo biológico (ovo-adulto) das duas linhagens foi afetada pelas temperaturas, no qual houve redução deste parâmetro com o aumento da temperatura. A maior duração do ciclo foi observada na temperatura de 15°C (37,3 dias e 36,6 dias) e, a menor a 30°C (8,3 dias e 7,7 dias), para as linhagens Ubajara e Guaraciaba, respectivamente. O tempo médio de desenvolvimento dos parasitoides a 30°C foi 4,49; 2,14 e 3,84 vezes menor que a 15°C, 20°C e 25°C para a linhagem Ubajara, e 4,75; 2,34 e 3,97 vezes menor nas mesmas condições de temperatura para a linhagem Guaraciaba. A linhagem Guaraciaba foi superior à Ubajara quanto à duração do ciclo, nas faixas de temperatura estudadas (Tabela 1). A partir dos resultados obtidos da duração da fase de ovo-adulto das linhagens de *T. pretiosum* (Tabela 1) calculou-se o limiar térmico inferior de desenvolvimento (Tb), a constante térmica (K) e o número de gerações por ano em ovos de *N. elegantalis* (Figura 1).

Tabela 1. Emergência (%) (Média ± erro padrão); Razão sexual (Média ± erro padrão); Número de indivíduos (parasitoides) emergidos por ovo (Média ± erro padrão) e; Duração (dias) (Média ± erro padrão) do ciclo de desenvolvimento (Ovo-adulto) de duas linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Neoleucinodes elegantalis* Guenée (Lepidoptera: Crambidae) em diferentes temperaturas

Temperaturas (°C)						
Linhagens	15	20	25	30		
	Emergência (%)					
Ubajara	$51,65 \pm 5,62 \text{ Ab}^1$	85,25 ± 3,62 Aa	92,49 ± 4,39 Aa	86,29 ± 9,53 Aa		
Guaraciaba	$64,94 \pm 3,22 \text{ Ac}$	$81,00 \pm 4,11 \text{ Ab}$	$98,88 \pm 1,11 \text{ Aa}$	$82,52 \pm 4,38 \text{ Ab}$		
	Razão sexual					
Ubajara	$0.51 \pm 0.06 \text{ Aa}$	$0,65 \pm 0,03 \text{ Aa}$	$0,67 \pm 0,05 \text{ Aa}$	$0.56 \pm 0.06 \text{ Aa}$		
Guaraciaba	$0.54 \pm 0.04 \text{ Ab}$	$0,66 \pm 0,02 \text{ Aa}$	$0,73 \pm 0,03$ Aa	$0,68 \pm 0,04 \text{ Aa}$		
	Parasitoide/ovo					
Ubajara	$1,00 \pm 0,00$	$1,00 \pm 0,00$	$1,00 \pm 0,00$	$1,00 \pm 0,00$		
Guaraciaba	$1,00 \pm 0,00$	$1,\!00\pm0,\!00$	$1,00 \pm 0,00$	$1,\!00\pm0,\!00$		
	Duração do ciclo					
Ubajara	$37,30 \pm 0,15$ Bd	17,40 ± 0,16 Bc	$9,70 \pm 0,15 \text{ Bb}$	8,30 ± 0,15 Ba		
Guaraciaba	$36,60 \pm 0,16 \text{ Ad}$	$15,60 \pm 0,16 \text{ Ac}$	$9,20 \pm 0,13 \text{ Ab}$	$7,7 \pm 0,15 \text{ Aa}$		

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Médias seguidas por mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 1. Relação entre temperatura, tempo e velocidade de desenvolvimento de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) linhagens A) Ubajara e B) Guaraciaba, em ovos de *Neoleucinodes elegantalis* Guenée (Lepidoptera: Crambidae)



Entre as linhagens testadas observou-se que as exigências térmicas foram: Tb de  $10,77^{\circ}$ C e  $10,86^{\circ}$ C; K para a fase de ovo-adulto de 153,85 e 142,86 GD e 3,27 e 3,50 gerações anuais para as linhagens Ubajara e Guaraciaba, respectivamente. Os valores obtidos de coeficientes de determinação ( $R^2$ ) foram 0,97 para a linhagem Ubajara e 0,98 para Guaraciaba, o que atende, portanto, ao valor preconizado pelo método da hipérbole, que é de  $R^2 \ge 0,90$  (Tabela 2).

Tabela 2. Limiar térmico inferior de desenvolvimento (Tb), constante térmica (K), número de gerações (ano) e coeficiente de determinação (R²) da fase de ovo a adulto de duas linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Neoleucinodes elegantalis* Guenée (Lepidoptera: Crambidae) em diferentes temperaturas

Linhagens	Tb (°C)	K (GD)	Número de Gerações (ano)	R <sup>2</sup>
Ubajara	10,77	153,85	3,27	0,97
Guaraciaba	10,86	142,86	3,50	0,98

## 4 DISCUSSÃO

Quando os parasitoides das duas linhagens foram expostos à 35°C não houve o desenvolvimento das linhagens, pois o metabolismo e a sobrevivência dos parasitoides são afetados quando, por exemplo, a temperatura está acima daquela considerada "ótima" para a espécie (PASTORI *et al.*, 2008).

O maior percentual de emergência foi observado quando as duas linhagens de *T. pretiosum* foram mantidas a 25°C e a menor a 15°C. A utilização de temperaturas inferiores a 20°C resultam na redução da porcentagem de emergência (PRATISSOLI & PARRA, 2000). As taxas de emergência de *T. pretiosum* linhagens Ubajara e Guaraciaba, inferiores a 70% a 15°C denotam que essa faixa não é adequada para criação do parasitoide em laboratório visando melhor obtenção deste parâmetro.

Outros autores também verificaram efeitos da temperatura na porcentagem de emergência de espécies de *Trichogramma*. A emergência de *T. pretiosum*, em ovos de *Sitotroga cerealella* Oliver (Lepidoptera: Gelechiidae) foi menor (63,6%) a 18°C, quando comparada a 25°C (93,5%) (INOUE & PARRA, 1998). A porcentagem de emergência de *T. pretiosum* em ovos da lagarta-enroladeira, *Bonagota salubricola* Meyrick (Lepidoptera: Tortricidae) foi 66,2% a 22°C (PASTORI *et al.*, 2008). À 25°C foi mais adequada para a porcentagem de emergência de *T. atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *T. pretiosum* em ovos do bicho-furão *Ecdytolopha aurantiana* Lima (Lepidoptera: Tortricidae) (MOLINA *et al.*, 2005).

Verificou-se razão sexual acima de 0,50 em todos os tratamentos, sendo este valor considerado apropriado visando o controle de qualidade em produção massal de *Trichogramma* spp. (NAVARRO, 1998).

A maior obtenção de fêmeas no presente estudo pode ser atribuída às boas condições de desenvolvimento proporcionadas pelo hospedeiro *N. elegantalis*. Com exceção de 15°C para a linhagem Guaraciaba, as faixas térmicas estudadas podem ser consideradas ideais para maior obtenção de fêmeas.

Outros autores também comprovaram a influência da temperatura na razão sexual de *T. pretiosum*. Geralmente existe maior ocorrência de machos de *Trichogramma s*pp. em temperaturas superiores a 30°C (BOWEN & STERN, 1966). A razão sexual da linhagem *T. pretiosum* LM apresentou maior número de fêmeas à 28°C (FONSECA *et al.*, 2005).

O número de parasitoides emergidos por ovo de *N. elegantalis* foi de um em todas as temperaturas estudadas demonstrando que os ovos de *N. elegantalis* apresentam tamanho e qualidade nutricional adequados para o desenvolvimento de apenas um parasitoide por ovo. A emergência de mais de um indivíduo por ovo do hospedeiro pode ocasionar obtenção de parasitoides de tamanho menor e com qualidade nutricional inferior em função da competição intraespecífica. Tal fato pode comprometer o desempenho dos parasitoides em condições de laboratório e campo (MOREIRA *et al.*, 2009).

A duração média do ciclo biológico (ovo-adulto) de *T. pretiosum* linhagens Uabajara e Guaraciaba apresentou relação inversa com a elevação da temperatura. Além da temperatura, a variação na duração do ciclo é influenciada pela adaptação da espécie/linhagem do parasitoide e do hospedeiro utilizado (PEREIRA *et al.*, 2004).

Observa-se acúmulo de graus-dias na temperatura mais elevada (30°C) onde constatou-se menor duração do ciclo de desenvolvimento. Graus-dias acumulados é o número de graus, acima de uma determinada temperatura, que o organismo necessita para seu desenvolvimento. Dessa forma, pode-se afirmar que as temperaturas mais elevadas aceleraram o ciclo biológico dos insetos, fazendo com que os mesmos passassem de um estágio para o outro em menor tempo quando comparado às temperaturas mais baixas. Em contrapartida, temperaturas mais baixas reduzem os processos metabólicos dos mesmos, fazendo com que a duração do ciclo seja mais longa (IOWA STATE UNIVERSITY, 2008).

A relação inversa entre o tempo de desenvolvimento em função do incremento de temperaturas, também foi constatado por Paes (2015) em experimento realizado com *T. pretiosum* e *T. galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos da lagarta-da-coroa *Duponchelia fovealis* Zeller (Lepidoptera: Crambidae) e Silva Júnior (2009) em experimento

com *T. pretiosum*, *T. acacioi* Brun, Moraes & Soares (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *T. atopovirilia* em ovos do hospedeiro mariposa-do-álamo *Condylorrhiza vestigialis* Guenée (Lepidoptera: Crambidae). A duração do ciclo variou de 6,8 a 23,1 dias para *T. pretiosum* em ovos da traça-das-crucíferas *Plutella xylostella* Linnaeus (Lepidoptera: Plutellidae) a 32°C e de 6,9 a 22,0 dias para *T. exiguum* Pinto & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) a 18°C (PEREIRA *et al.*, 2004).

A determinação da temperatura adequada para o desenvolvimento de insetos é fundamental para o estabelecimento de criações em laboratório, bem como para adoção de métodos de controle que possibilitem estudos referentes aos aspectos biológicos das pragas (PREZOTTI & PARRA, 2002). Por meio da comparação das exigências térmicas de *T. pretiosum* linhagens Ubajara e Guaraciaba obtidos nessa pesquisa, pode-se prever que, ao longo do ano, o número de gerações da linhagem Guaraciaba será maior que o da linhagem Ubajara, característica essa importante para um programa de controle biológico.

Os resultados obtidos no presente trabalho comprovam a influência da temperatura nas linhagens coletadas na região da Serra da Ibiapaba, e ressaltam a importância da verificação da influência da mesma nos parâmetros biológicos.

## **5 CONCLUSÕES**

A temperatura alterou os parâmetros biológicos, sendo a duração do ciclo das linhagens Ubajara e Guaraciaba decrescente com seu aumento.

A faixa de temperatura mais adequada para o desenvolvimento das linhagens de *T. pretiosum* em ovos de *N. elegantalis* situou-se entre 25°C e 30°C, quando obteve-se o menor ciclo ovo-adulto.

# REFERÊNCIAS

- BARROS, P. C. S.; COSTA, A. R.; SILVA, P. C.; COSTA, R. A. Torta de filtro como biofertilizante para produção de mudas de tomate industrial em diferentes substratos. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 9, p. 265 270, 2014.
- BERTI, J.; MARCANO, R. Preferência de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) por huevos de diferentes edades de vários hospederos. **Boletin de Entomologia Venezolana**, v. 6, p.77-81, 1991.
- BENVENGA S. R.; BORTOLI S. A.; GRAVENA S.; BARBOSA J. C. Monitoramento da broca-pequena-do-fruto para a tomada de decisão do controle do tomateiro estaqueado. **Horticultura Brasileira**, v. 28, p. 435-440, 2010.
- BOWEN, W. R.; STERN, V. M. Effect of temperature on the production of males and sexual mosaics in a uniparental race of *Trichogramma semifumatum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 59, p. 823-834, 1996.
- CHEN, W. L.; LEOPOLD, R. A.; BOETEL, M. A. Cold storage of adult *Gonatocerus ashmeadi* (Hymenoptera: Mymaridae) and effects on maternal and progeny fitness. **Journal of** *Economic Entomology*, v. 101, p. 1760-1770, 2008.
- FONSECA, F. L.; ADALECIO KOVALESKI, A.; FORESTI, J.; RINGENBERG, R. Desenvolvimento e Exigências Térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em Ovos de *Bonagota cranaodes* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 945-949, 2005.
- FORESTI, J.; GARCIA, M. S.; BERNARDI, O.; ZART, M.; NUNES, A. M. Biologia, Seleção e Avaliação de Linhagens de *Trichogramma* spp. para o Controle da Lagarta-da-Espiga em Milho Semente. **EntomoBrasilis**, v. 5, p. 1-6, 2012.
- FORNAZIER, M. J.; PRATISSOLI, D.; MARTINS, D. dos S. Principais pragas da cultura do tomateiro estaqueado na região das montanhas do Espírito Santo. In: INCAPER. **Tomate**. Vitória: INCAPER, p.185-226. 2010.
- GOMES, S. K. S.; CASTRO, M. T. Monitoramento de insetos em plantios de tomate com adubação silicatada. **Biodiversidade**, v. 16, p. 60-67, 2017.
- GOULART, R. M.; DE BORTOLI, S. A.; THULER, R. T.; PRATISSOLI, D.; VIANA, C. L. T. P.; VOLPE, H. X. L. Avaliação da seletividade de inseticidas a *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidade) em diferentes hospedeiros. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, p. 69-77, 2008.
- GRAVENA, S.; BENVENGA, S. R. Manual prático para manejo ecológico de pragas do tomate. Jaboticabal, Gravena-ManEcol LTDA, 144 p, 2003.

- HADDAD, M. L.; PARRA, J. R. P.; MORAES, R. C. **Métodos para estimar os limites térmicos inferior e superior de desenvolvimento de insetos**. FEALQ, Piracicaba 29p., 1999.
- IBGE- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Disponível em: <a href="https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618">https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618</a>>. Acesso em: 02 de Maio de 2018.
- INOUE, M. S. R.; PARRA, J. R. P. Efeito da temperatura no parasitismo de *Trichogramma* pretiosum Riley, 1879 sobre ovos de *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819). **Scientia Agricola**, v. 55, p. 222-226, 1998.
- IOWA STATE UNIVERSITY. 1997. Using degree days in an integrated pest management program. Iowa State University University Extension Ames, Iowa, Pat-1296 Revisado Junho/1987, Versão eletrônica criada em 1997. Disponível em: <a href="http://www.extension.iastate.edu/publications">http://www.extension.iastate.edu/publications</a>>. Acesso em: 19 de Maio de 2018.
- LOOS, R. A.; SILVA, D. J. H.; FONTES, P. C. R.; PICANÇO, M. C. Identificação e quantificação dos componentes de perdas de produção do tomateiro em ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, v. 26, p. 281-286, 2008.
- MOLINA, R. M. S.; FRONZA, V.; PARRA, J. R. P. Seleção de *Trichogramma* spp., para o controle de *Ecdytolopha aurantiana* com base na biologia e exigências térmicas. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 49, p. 152-158, 2005.
- MOURA, A. P.; MICHEREFF FILHO, M.; GUIMARÃES, J. A.; LIZ, R. S. Manejo integrado de pragas do tomateiro para processamento industrial. **Circular Técnica** n. 129, Embrapa Hortaliças, 24 p., 2014.
- MOREIRA, M. D.; SANTOS, M. C. F.; BESERRA, E. B.; TORRES, J. B.; ALMEIDA, R. P. de. Parasitismo e Superparasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Sitotroga cerealella* (Oliver) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Neotropical Entomology**, v. 38, p. 237-242, 2009.
- NAVARRO, A. M. *Trichogramma* spp.: producción, uso y manejo en Colombia. Guadalajara de Buga: Impretec, 176p., 1998.
- PAES, J. P. 2015. **Seleção e caracterização de** *Trichogramma* (**Hymenoptera: Trichogrammatidae**) **em** *Duponchelia fovealis* **Zeller** (**Lepidoptera: Crambidae**). 83 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2015.
- PASTORI, P. L., MONTEIRO, L. B.; BOTTON, M. 2008. Biologia e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) linhagem bonagota criado em ovos de *Bonagota salubricola* (Meyrick) (Lepidoptera, Tortricidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 52, p. 472-476, 2008.
- PEREIRA, F. F.; BARROS, R.; PRATISSOLI, D.; PARRA, J. R. P. Biologia e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley e *T. exiguum* Pinto & Platner (Hymenoptera:

- Trichogrammatidae) criados em ovos de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Neotropical Entomology**, v. 33, p. 231-236, 2004.
- PICANÇO, M.; BACCI, L.; CRESPO, A. L. B.; MIRANDA, M. M. M.; MARTINS, J. C. Effect of integrated pest management practices on tomato production and conservation of natural enemies. **Agricultural and Forest Entomology**, v. 9, p. 327-335, 2007.
- PRATISSOLI, D.; PARRA, J. R. P. Desenvolvimento e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley, criados em duas traças do tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, p. 1281-1288, 2000.
- PREZOTTI, L.; PARRA, J. R. P. Controle de qualidade em criações massais de parasitóides e predadores, p.295-307. In J.R.P. Parra, S.M. Botelho, B.S.C. FERREIRA & J.M.S. Bento (eds), Controle biológico no Brasil: Parasitoides e predadores. São Paulo, Manole, 635p., 2002.
- RODRIGUES, S. M. M.; SAMPAIO, M. V. Armazenamento de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em baixas temperaturas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, p. 45-51, 2011.
- SIQUEIRA, J. R.; BUENO, R. C. O. F.; BUENO, A. F.; VIEIRA, S. S. Preferência hospedeira do parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum*. **Ciência Rural**, v. 42, p. 1-5, 2012.
- SILVA JÚNIOR, R. J. 2009. Capacidade de parasitismo e de desenvolvimento de três espécies de *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Condylorrhiza vestigialis* (Lepidoptera: Crambidae). 102 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.
- VIANNA, U. R.; PRATISSOLI, D.; ZANUNCIO, J. C..; ALENCAR, J. R. C. C.; ZINGER, F. D. Espécies e/ou linhagens de *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, p.81-87, 2011.
- WAJNBERG, E. Genetics of the behavioral ecology of egg parasitoids. In: CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on** *Trichogramma*. Dordrecht: Springer, p. 150-159, 2010.

6 ANÁLISE MOLECULAR PARA IDENTIFICAÇÃO DE Wolbachia (RICKETTSIALES: RICKETTSIACEAE) EM LINHAGENS DE Trichogramma pretiosum (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) COLETADAS NO ESTADO DO CEARÁ

#### **RESUMO**

As interações parasitoides-simbiontes tem sido estudadas em várias associações, principalmente envolvendo *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Objetivou-se com este estudo, detectar infecções naturais de Wolbachia (Rickettsiales: Rickettsiaceae) em linhagens de Trichogramma pretiosum Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) coletadas na região da Serra da Ibiapaba, Estado do Ceará, Brasil. As linhagens Ubajara-CE e Guaraciaba-CE de T. pretiosum foram coletadas em ovos de Neoleucinodes elegantalis Guenée (Lepidoptera: Crambidae) naturalmente ovipositados em frutos de tomateiros (Solanum lycopersicum L.). Algumas fêmeas de cada linhagem dos parasitoides foram armazenadas em álcool 100% e outra parte fixada em cartões FTA® e transportadas para o Laboratório de Entomologia da Universidade da Califórnia (UCR), Riverside, California, USA. Para a execução das análises o material foi submetido às seguintes etapas: Extração de DNA e reação em cadeia da polimerase (PCR), por meio dos primers ITS-2 e 16s com consequente destruição das amostras. Apesar da utilização das técnicas adequadas não foi verificada presença de Wolbachia nas fêmeas de T. pretiosum linhagens Ubajara e Guaraciaba.

Palavras-chave: Bactéria simbionte. Controle biológico. Parasitoides. Fêmeas telítocas.

#### **ABSTRACT**

The parasitoid-symbiont interactions has been studied in several associations, mainly involving *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae). The objective of this study was to detect natural *Wolbachia* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) infections in *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) lineages collected in the Serra da Ibiapaba region, State of Ceará, Brazil. The Ubajara-CE and Guaraciaba-CE lineages of *T. pretiosum* were collected on eggs of *Neoleucinodes elegantalis* Guenée (Lepidoptera: Crambidae) naturally oviposited on tomato fruit (*Solanum lycopersicum* L.). Some females of each lineage of parasitoids were stored in 100% alcohol and another part fixed in FTA® cards and transported to the Laboratory of Entomology of the University of California (UCR), Riverside, California, USA. In order to carry out the analyzes, the material was submitted to the following steps: DNA extraction and polymerase chain reaction (PCR), using primers ITS-2 and 16s with consequent destruction of the samples. Despite the use of appropriate techniques, the detection of *Wolbachia* was not present in the females of *T. pretiosum* Ubajara and Guaraciaba lineages.

Keywords: Symbiont bacterium. Biological control. Parasitoids. Thelytokous females.

# 1 INTRODUÇÃO

Bactérias do gênero *Wolbachia* são endossimbiontes obrigatórios pertencentes à família Rickettsiaceae. São microrganismos intracelulares e estão presentes em um vasto número de espécies de artrópodes (WERREN, 1997). Relata-se que 66% das espécies de insetos possuem *Wolbachia* (HILGENBOECKER *et al.*, 2008) e desses, espécies pertencentes à Diptera e Hymenoptera são mais frequentemente infectadas (WERREN & JAENIKE, 1995; WENSELEERS *et al.*, 1998).

A interação da bactéria com seus hospedeiros, nesse caso os parasitoides, pode influenciar a resistência dos mesmos a diferentes fontes de estresse, como por exemplo, à temperatura e aos pesticidas (MONTLLOR *et al.*, 2002; BERTICAT *et al.*, 2002). Pode ainda provocar alteração em características biológicas, influenciar a nutrição, a locomoção, podendo também beneficiar a competição interespecífica (BROWNLIE *et al.*, 2007). Dependendo da linhagem da bactéria e do genótipo do hospedeiro, *Wolbachia* pode induzir vários fenótipos em insetos (HARRIS *et al.*, 2010).

Vários estudos são realizados com *Wolbachia*, em razão das alterações reprodutivas que esta causa em seus hospedeiros. Entre essas cita-se a incompatibilidade citoplasmática (O'NEILL, 1990), a feminização e a morte de machos (ROUSSET *et al.*, 1992). Ainda são capazes de reverter o sexo, de forma que os descendentes reproduzam-se por partenogênese telítoca. Telitoquia é o processo no qual os ovos, fertilizados ou não produzem fêmeas diploides (STOUTHAMER *et al.*, 1990). É um tipo de reprodução comum em himenópteros, os quais destaca-se os parasitoides de ovos do gênero *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (STOUTHAMER *et al.*, 1993; PINTO & STOUTHAMER, 1994).

Cerca de 230 espécies do gênero *Trichogramma* são conhecidas em todo o mundo, sendo 28 espécies distribuídas em quase todas as regiões do Brasil, mas *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) é a espécie de maior ocorrência, associada à diversos hospedeiros (ZUCCHI *et al.*, 2010; PARRA *et al.*, 2015; NOYES, 2016; QUERINO *et al.*, 2017), sendo o principal utilizado no controle biológico. *T. pretiosum* pode ser utilizado no controle da broca-pequena-do-tomateiro, *Neoleucinodes elegantalis* Guenée (Lepidoptera: Crambidae), uma das principais pragas da cultura do tomate (*Solanum lycopersicum* L.), bem como de outros lepidópteros-praga (WAJNBERG, 2010; OLIVEIRA, 2017).

Utilizar uma população telítoca de parasitoides em programas de controle biológico traz vantagens como o rápido crescimento da população; a redução dos custos de produção, uma vez que, não há produção de machos; o fácil estabelecimento no campo, visto que, não há necessidade de cópula e alta taxa de reprodução da população em densidade baixa do hospedeiro (STOUTHAMER, 1993).

As interações parasitoides-simbiontes tem sido estudadas em várias associações envolvendo *Trichogramma* spp. (STOUTHAMER, *et al.*, 1990; PINTO & STOUTHAMER, 1994; STOUTHAMER, 1997; ALMEIDA *et al.*, 2010). No Brasil, a presença de *Wolbachia* foi detectada pela primeira vez em 2001, em *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) proveniente de coletas realizadas em Sete Lagoas, Minas Gerais (CIOCIOLA JÚNIOR *et al.*, 2001). Em 2011 foi detectada a presença da bactéria em linhagens de *T. pretiosum* coletadas nos Estados do Espírito Santo (SANTOS, 2011) e São Paulo (SOUZA, 2011).

Embora tenha sido identificada em alguns Estados brasileiros, os estudos da interação *Wolbachia* x *Trichogramma* são escassos especialmente nas regiões Norte e Nordeste do Brasil onde, inclusive existem poucos estudos sobre ocorrências de populações naturais desse parasitoide (OLIVEIRA, 2017).

Nesse contexto, objetivou-se com este estudo detectar infecções naturais de *Wolbachia* em linhagens de *T. pretiosum* coletadas na região da Serra da Ibiapaba, Estado do Ceará, Brasil.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

## 2.1 Coleta e estabelecimento de colônias de Trichogramma pretiosum

As linhagens de *T. pretiosum* foram obtidas de ovos de *N. elegantalis* naturalmente ovipositados em frutos de tomateiros na Serra da Ibiapaba, Ceará, Brasil. A primeira linhagem foi coletada na zona rural do município de Ubajara em condições de cultivo convencional e, a segunda no município de Guaraciaba do Norte em condições de cultivo orgânico. O município de Ubjara está situado a uma latitude de 3°51′S, longitude 40°55′W e uma altitude média de 847.5 m acima do nível do mar, com temperatura máxima de 27,35 ° C e mínima de 16,0°C. O município de Guaraciaba do Norte está situado a uma latitude de 4°10′S, longitude 40°44′W e uma altitude média de 902.4 m acima do nível do mar, com temperatura máxima de 26,6°C e mínima de 15,6°C. A identificação prévia dos

parasitoides foi feita pelo *D. Sc.* Fabricio Fagundes Pereira e ratificada/confirmada pela *D. Sc.* Ranyse Barbosa Querino da Silva.

O material coletado (frutos contendo ovos da praga) foi acondicionado em caixas de isopor (50 L) e transportado para o Laboratório de Entomologia Aplicada (LEA) da Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, Ceará. No LEA, os ovos foram retirados dos frutos com auxílio de um pincel de pelos finos e transferidos para tubos de vidro (8,5 x 2,5 cm), fechados com filme plástico PVC®, onde permaneceram até a emergência dos parasitoides.

Parte das fêmeas emergidas foi armazenada em álcool 100% e transportada para o Laboratório de Entomologia da Universidade da Califórnia (UCR), Riverside, Califórnia, para extração de DNA, reações em cadeia da polimerase (PCR) e eletroforese de fragmentos de DNA, visando a detecção de *Wolbachia*.

Foram transportadas também amostras (fêmeas) utilizando cartões FTA®. Para tal, as fêmeas recém-emergidas de cada linhagem, provenientes da criação massal estabelecida no LEA, foram coletadas, inseridas em tubos de vidro e estes, acondicionados em freezer (-5 °C) visando à morte das fêmeas. Depois de retiradas do freezer, as fêmeas mortas foram mantidas em papel filtro para secagem e, em seguida colocadas de forma isolada nos quadrantes dos cartões FTA® com o auxílio de um pincel de pelos finos. Os parasitoides foram esmagados (fixados) com o auxílio de pipetas de vidro. Antes da utilização, as pipetas foram flambadas em chama de fogo para evitar contaminação das amostras sendo esse procedimento repetido para cada fêmea fixada. Foram utilizadas 25 fêmeas por quadrante dispostas de forma equidistantes, totalizando 100 fêmeas para cada linhagem.

## 2.2 Análises moleculares

## 2.2.1 Extração de DNA genômico

Para a extração de DNA, as fêmeas parasitoides foram removidas do álcool, e mantidas à temperatura ambiente visando à evaporação do mesmo. Após, cada fêmea parasitoide foi macerada com 60 μl de Chelex a 5% e 2 μl de proteinase K. As amostras foram incubadas a 55 °C durante 60 minutos, e depois transferidas para um bloco de calor a 99°C durante 10 minutos. Após esse processo, as amostras foram centrifugadas a 14,000 rpm por 4 minutos, e os sobrenadantes foram recuperados para reação em cadeia da polimerase (PCR) (WALSH *et al.* 1991).

Para as amostras provenientes dos cartões FTA®, foi retirado um disco de 1,2 mm do quadrante contendo a fêmea. O procedimento foi realizado com o auxílio de dispositivo de remoção de núcleo. Cada disco (contendo uma fêmea) foi isolado em um tubo de amplificação PCR, e após adicionado 200 μl de reagente de purificação de FTA® (Whatman Cat. No. WG120204). As amostras foram mantidas por 5 minutos em temperatura ambiente sendo posteriormente removido o reagente com o auxílio de uma pipeta. Esse procedimento foi repetido mais 2 vezes, totalizando três "lavagens". Posteriormente foram adicionados 200 μl de TE-¹ Buffer (10 mM Tris-HCI, 0,1 Mm EDTA, Ph 8.0) em cada tubo, no qual foram mantidos por 5 minutos em temperatura ambiente, e após removido. O procedimento foi realizado duas vezes. O disco foi seco à temperatura ambiente por cerca de 60 minutos.

## 2.2.2 Reação em cadeia da polimerase (PCR)

Os iniciadores utilizados para amplificar a região ITS-2 foram: 5'TGTGAACTGCAGGACACATG3' (frente) e 5'GTCTTGCCTGCTCTGCTCTGAG3' (reverso) na reação de PCR programada durante 1 minuto à 72 °C, seguido por 33 ciclos de 45 segundos à 92 °C, 45 segundos à 53°C e 60 segundos à 72°C com uma extensão final de 3 minutos à 72 °C. A reação foi realizada com volume total de 23 µl contendo 2,5 µl de Buffer; 5,0 µl de dNTP; 1,0 mM de MgCl<sub>2</sub>; 1,5 µl de BSA; 0,2 µl de Taq; 0,5 µl primers ITS-2 (frente) e ITS-4 (reverso) e 11,80 µl de água destilada estéril (STOUTHAMER *et al.*, 1999).

Para as amostras provenientes dos cartões FTA®, foram realizados os mesmos procedimentos, porém com um volume total de 25 μl, 1,0 μl dos primers e 12,8 μl de água destilada estéril.

Foi utilizado o controle positivo (DNA template) e negativo (solução sem DNA).

Para amostras positivas foram utilizadas a amplificação do PCR do rDNA com o iniciador 16s: 5'TTGTAGCCTGCTATGGTATAACT3' e 16S-R: 5'GAATAGGAGTTTTCATGT3' nas condições de ciclagem do PCR: 90 segundos à 72 °C, 30 segundos à 94 °C, 45 segundos à 55 °C, 90 segundos à 72 °C e 10 minutos à 72 °C (RUGMAN-JONES *et al.*, 2012). Foram utilizados controle positivo (com presença de *Wolbachia*) e negativo (solução sem DNA).

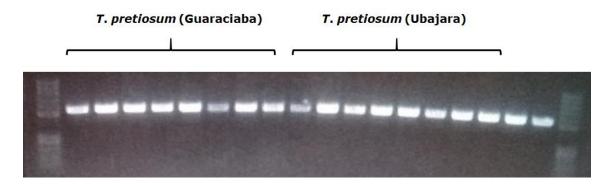
Os produtos de amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose 1% em tampão TAE Buffer (Tris-Acetato-EDTA) e  $0.4~\mu l$  / mL de brometo de etídio, posteriormente visualizado em transiluminador (UV) acoplado ao sistema de captura e escaneamento de imagens.

Todo o processo pelo qual as amostras são submetidas é considerado destrutivo.

## **3 RESULTADOS**

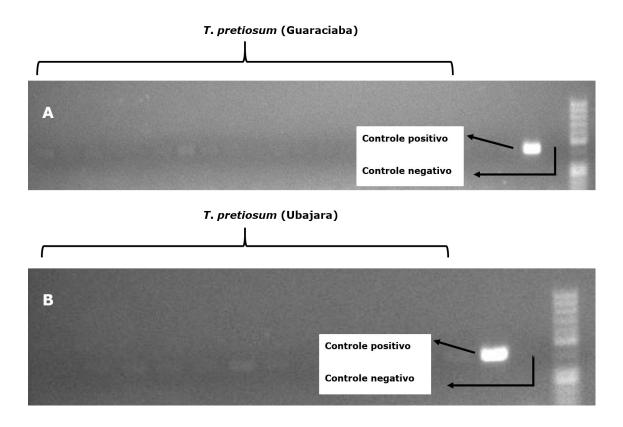
Foram obtidos os produtos de amplificação de DNA genômico das duas linhagens de *T. pretiosum*, utilizando-se o primer ITS-2 (Figura 1).

Figura 1. Eletroforese em gel de agarose 1% do produto da amplificação do DNA extraído de maneira independente de diferentes linhagens (Ubajara e Guaraciaba) de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), utilizando-se o marcador ITS-2



Com base na análise molecular não foi verificada a detecção de *Wolbachia* e, dessa forma, não houve presença de fêmeas de *T. pretiosum* infectadas nas linhagens Ubajara (Figura 2A) e Guaraciaba (Figura 2B).

Figura 2. Gel de agarose com o fragmento de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) das linhagens Guaraciaba (A), e Ubajara (B) amplificados pelo gene 16s



#### 4 DISCUSSÃO

Foi possível à amplificação de DNA genômico das linhagens Ubajara e Guaraciaba, utilizando-se Internal Transcribed spacer 2 (ITS2). O ITS2 tem sido utilizado em estudos taxonômicos e sua utilidade foi verificada em função da confiabilidade que o método confere à identificação das espécies de *Trichogramma* spp. A vantagem deste sistema de identificação comparado ao sistema baseado na morfologia é que por meio deste, pesquisadores não especialistas são capazes de identificar de maneira rápida e com menor custo às espécies. Além de que, as fêmeas do parasitoide também podem ser identificadas, o que não é possível no sistema morfológico (ALMEIDA & STOUTHAMER, 2015).

Não foi verificada presença de *Wolbachia* nas linhagens estudadas após a amplificação pelo gene 16s, sendo assim não foi possível a continuidade das análises visando identificar a linhagem da bactéria. Estudos com base nos marcadores 16s rDNA, *fts*Z e *wsp*, permitiram a divisão do gênero *Wolbachia* em supergrupos à medida que novos hospedeiros foram descobertos (O´NEILL *et al.*, 1992; HOLDEN *et al.*, 1993; ZHOU *et al.*, 1998;

WERREN *et al.*, 1995). Atualmente *Wolbachia* é distribuída em onze supergrupos designados de A a K, em que A e B incluem a maioria dos artrópodes (BOWMAN, 2011).

A transferência de *Wolbachia* pode ocorrer verticalmente via materna (citoplasma dos ovos) ou paterna (pouco frequente) ou então horizontalmente, processo no qual a transmissão da bactéria é realizada entre organismos de espécies diferentes. Foi verificada predominância de fêmeas nas primeiras gerações das linhagens Ubajara e Guaraciaba (amostras armazenadas em álcool) e também nas linhagens quando coletadas amostras para os cartões FTA, mas não havia ocorrência exclusiva de fêmeas, fato que caracteriza a não ocorrência de *Wolbachia*, porém isso não excluía a possibilidade de infecções naturais pela bactéria, uma vez que, a transferência vertical pode ocorrer de forma perfeita (infecção da prole  $\cong 100\%$ ) ou imperfeita (infecção da prole < 100%) (TURELLI *et al.*, 1992; TURELLI & HOFFMANN, 1995; JIGGINS *et al.*, 2002). Assim, a ausência pode ser explicada pela possível perda da população de *Wolbachia* ao longo da manutenção das gerações dos parasitoides em laboratório. Este fato ainda não foi bem explorado pelos pesquisadores, porém sabe-se que flutuações de temperatura, especialmente quando elevadas (acima de 28°C) contribuem para a eliminação da bactéria (WENSELEERS *et al.*, 2002; AHRENS & SHOEMAKER, 2005).

Para manutenção de populações de *Trichogramma* spp. infectadas com *Wolbachia*, torna-se necessário o isolamento das fêmeas coletadas em campo. Esse procedimento requer a oferta de ovos de um hospedeiro alternativo, por exemplo, *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) visando o parasitismo, de forma que, os descendentes possam ser provenientes de cada fêmea "solitária". Esta etapa não pôde ser realizada, uma vez que, não havia possibilidade de separar individualmente os ovos de *N. elegantalis* nos quais as linhagens foram coletadas. Apesar da necessidade de individualização, optou-se pelo estabelecimento da criação da espécie coletada em detrimento da separação e possibilidade de perda de emergência dos parasitoides.

A continuidade das coletas e análises visando à detecção da bactéria *Wolbachia* em espécies/linhagens coletadas na região da Serra da Ibiapaba será importante, pois pode contribuir para o desenvolvimento de programas de controle biológico que incluam a manutenção de colônias dos parasitoides infectados pela bactéria, auxiliando no controle de importantes insetos-praga, especialmente Lepidoptera ocorrentes na região à exemplo da broca-pequena-do-tomateiro *N. elegantalis*, da *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), da traça-das-crucíferas *Plutella xylostella* Linnaeus (Lepidoptera: Plutellidae), dentre outras. Cabe destacar que populações de *Trichogramma* spp. infectadas pela bacteria

Wolbachia tendem à produção exclusiva de fêmeas que são responsáveis pelo parasitismo e efetivo controle das espécies-praga, e quanto maior for seu número, menor será o custo com a criação massal, e consequentemente de aplicação no controle (MONTOYA *et al.*, 2011).

A simples detecção da bacteria *Wolbachia* em populações dos parasitoides, entretanto não elimina a necessidade de estudos visando comparar populações sexuadas com populações telítocas do parasitoide, sendo essas com e sem a presença da bactéria (CIOCIOLA & CRUZ, 2001; CIOCIOLA JUNIOR *et al.*, 2001) com o objetivo de selecionar a população mais eficiente com o propósito de controle biológico aplicado.

# 5 CONCLUSÃO

Apesar da utilização das técnicas adequadas não foi verificada presença de *Wolbachia* nas fêmeas de *T. pretiosum* linhagens Ubajara e Guaraciaba.

# REFERÊNCIAS

AHRENS, M. E.; ROSS, K. G.; SHOEMAKER, D. D. Phylogeographic structure of the fire ant *Solenopsis invicta* in its native south American range: Roles of the natural barriers and habitat connectivity. **Evolution**, v. 59, p. 1733-1743, 2005.

ALMEIDA, R. P.; STOUTHAMER, R. ITS-2 sequences-based identification of *Trichogramma* species in South America. **Brazilian Journal of Biology**, v. 75, p. 974-98, 2015.

ALMEIDA, R. P.; VAN LENTEREN, J. C.; STOUTHAMER, R. Does *Wolbachia* infection affect *Trichogramma atopovirilia* behaviour? **Brazilian Jounal of Biology**, v. 70, p. 435-442, 2010.

BERTICAT, C.; ROUSSET, F.; RAYMOND, M.; BERTHOMIEU, A.; WEILL, M. High *Wolbachia* density in insecticide-resistant mosquitoes. **Proceeding of the Royal Society**, v. 269, p. 1413-1416, 2002.

BOWMAN, D. D. Introduction to the Alpha-proteobacteria: *Wolbachia* and Bartonella, *Rickettsia*, *Brucella*, *Ehrlichia*, and *Anaplasma*. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 26, p. 173-177, 2001.

BROWNLIE, J. C.; ADAMSKI, M.; SLATKO, B.; MCGRAW, E. A. Diversifying selection and host adaptation in two endosymbiont genomes. **BMC Evolutionary Biology**, v. 7, p. 68, 2007.

CIOCIOLA JÚNIOR, A. I.; ALMEIDA, R. P.; ZUCCHI, R. A.; STOUTHAMER, R. Detecção de *Wolbachia* em uma população telítoca de *Trichogramma atopovirilia* Oatman and Platner (Hymenoptera, Trichogrammatidae) via PCR com o *primer* específico *wsp*. **Neotropical Entomology**, v. 30, p. 489-491, 2001.

CIOCIOLA JÚNIOR, A. I.; CRUZ, I. Detecção de *Wolbachia* em *Trichogramma atopovirilia* (Hymrnoptera: Trichogrammatidae) coletado na Embrapa Milho e Sorgo. **Comunicado Técnico 28**. Embrapa, 2 p., 2001.

HARRIS, H. L.; BRENNAN, L. J.; KEDDIE, B. A.; BRAIG, H. R. Bacterial symbionts in insects: Balancing life and death. **Symbiosis**, v. 51, p. 37-53, 2010.

HILGENBOECKER, K.; HAMMERSTEIN, P.; SCHLATTMANN, P.; TELSCHOW, A.; WERREN, J. H. How many species are infected with Wolbachia? -a statistical analysis of current data. **FEMS Microbiol Lett**, v. 281, p. 215-220, 2008.

JIGGINS, F. M; HURST, G. D.; YANG, Z. Host-Symbiont Conflicts: Positive Selection on an Outer Membrane Protein of Parasitic but not Mutualistic Rickettsiaceae. **Molecular Biologyand Evolution**, v. 19, p. 1341-1349, 2002.

MONTLLOR, C.; MAXMEN, A.; PURCELL, A. Facultative bacterial endosymbionts benefit pea aphids *Acyrthosiphon pisum* under heat stress. **Ecological Entomology**, v. 27, p. 189-195, 2002.

MONTOYA, P.; CANCINO, J.; LACHAUD, G. P.; LIEDO, P. Host size, superparasitism and sex ratio in mass-reared *Diachasmimorpha longicaudata*, a fruit fly parasitoid. **Bio Control**, v. 56, p. 11-17, 2011.

NOYES, J. S. **Universal Chalcidoidea Database**. 2016. Disponível em: <a href="http://www.nhm.ac.uk/research-curation/projects/chalcidoids/">http://www.nhm.ac.uk/research-curation/projects/chalcidoids/</a>>. Acesso em 22 de abril 2018.

OLIVEIRA, R. C. M. 2017. Trichogramma pretiosum (Hymenoptera:

Trichogrammatidae): parasitismo natural em broca-pequena-do-tomateiro e dispersão em repolho, pepino e milho verde. 60 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, 2017.

O'NEILL, S. L.; KARR, T. L. Bidirectional incompatibility between conspecific populations of *Drosophila simulans*. **Nature**, v. 348, p. 178-180, 1990.

PARRA, J. R. P., ZUCCHI, R. A., COELHO JR., A., GEREMIAS, L. D., CÔNSOLI, F.L. *Trichogramma* as a tool for IPM in Brazil. p. 472–496. In: VINSON, B., GREENBERG, S.M., LIU, T., RAO, A., VOLOSCIUK, L.F., eds., **Augmentative biological control using** 

*Trichogramma* spp.: Current status and perspectives. Northwest A&F University Press, China, 2015.

PINTO, J. D.; STOUTHAMER, R. Systematics of the Trichogrammatidae with emphasis on *Trichogramma*. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S. A. (Ed.). **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: CAB International, p. 1-36, 1994.

QUERINO, R. B.; MENDES, J. V.; COSTA, V. A.; ZUCCHI, R. A. New species, notes and new records of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in Brazil. **Zootaxa**, v. 4232, p. 137-143, 2017.

ROUSSET, F.; BOUCHON, D.; PINTUREAU, B.; JUCHAULT, P.; SOLIGNAC, M. *Wolbachia* endosymbionts responsible for various alterations of sexuality in arthropods. **Proceedings of the Royal Society**, v. 250, p. 91-98, 1992.

RUGMAN-JONES, P. F.; HODDLE, M. S.; AMRICH, R.; HERATY, J. M.; STOUTHAMER-INGEL, C.E.; STOUTHAMER, R. Phylogeographic structure, outbreeding depression, and reluctant virgin oviposition in the bean thrips, *Caliothrips fasciatus* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae), in California. **Bulletin of Entomological Research**, v. 102, p. 698-709, 2012.

SANTOS, N. R. 2011. Estudos moleculares de espécies do gênero *Trichogramma* Westwood, 1833 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e detecção de *Wolbachia* (Rickettsiales: Anaplasmataceae). 122 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011.

SOUZA, A. R. A. 2011. **A interação** *Wolbachia - Trichogramma galloi* **Zucchi, 1988** (**Hymenoptera: Trichogrammatidae**). 64 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia). Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

STOUTHAMER, R., LUCK, R. F.; HAMILTON, W. D. Antibiotics cause parthenogenetic *Trichogramma* to revert to sex. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 87, p. 2424-2427, 1990.

STOUTHAMER, R. The use of sexual versus asexual wasps in biological control. **Entomophaga**, v. 38, p. 3-6, 1993.

STOUTHAMER, R.; BREEUWER, J. A. J.; LUCK, R.F.; WERREN, J. H. Molecular identification of microorganisms associated with parthenogenesis. **Nature**, v. 361, p. 66-68, 1993.

STOUTHAMER, R. *Wolbachia* induced parthenogenesis. In: O'NEIL, S. C.; WERREN, J. H.; HOFFMAN, A. A. (Ed.). **Influential passengers, inherited microorganisms and arthropod reproduction**. Oxford: Oxford University Press, p. 102-124, 1997.

STOUTHAMER, R.; HU, J.; VAN KAN, F. J. P. M.; PLATNER, G. R.; PINTO, J. D. The utility of internally transcribed spacer 2 DNA sequences of the nuclear ribosomal gene for distinguishing sibling species of *Trichogramma*. **BioControl**, v.43, p. 421-440, 1999.

TURELLI, M.; HOFFMANN, A. A.; MCKECHNNIE, S. W. Dynamics of cytoplasmic and mtDNA variation in natural *Drosophila simulans* populations. **Genetics**, v. 132, p. 713-723, 1992.

TURELLI, M.; HOFFMANN, A. A. Cytoplasmic incompatibility in *Drosophila simulans*: Dynamics and parameter estimates from natural populations. **Genetics**, v. 140, p. 1319-1338, 1995.

WALSH, P. S.; METZGER, D. A.; HIGUCHI, R. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. **Biotechniques**, v. 10, p. 506-513, 1991.

WAJNBERG, E. Genetics of the behavioral ecology of egg parasitoids. In: CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on** *Trichogramma*. Dordrecht: Springer, p. 150-159, 2010.

WENSELEERS, T.; ITO, F.; VAN BORM, S.; HUYBRECHTS, R.; VOLCKAERT, F.; BILLEN, J. Widespread occurrence of the micro-organism *Wolbachia* in ants. **Proceedings of the Royal Society**, v. 265, p. 1447-1447, 1998.

WENSELEERS, T.; SUNDSTRÖM, L.; BILLEN, J. Deleterious *Wolbachia* in the ant *Formica truncorum*. **Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Science**, v. 269, p. 623-629, 2002.

WERREN, J. H.; O'NEILL, S. L. The evolution of heritable symbionts. In: O'NEILL, S. L.; HOFFMANN, A. A.; WERREN, J. H. (Ed.). **Influential passengers**: Inherited microorganisms and arthropod reproduction. Oxford: Oxford University Press, p. 1-41, 1997.

WERREN, J. H.; JAENIKE, J. *Wolbachia* and cytoplasmic incompatibility in mycophagous *Drosophila* and their relatives. **Heredity**, v. 75, p. 320-326, 1995.

ZHOU, W. G., ROUSSET, F.; O'NEILL, S. 1998. Phylogeny and PCR-based classification of *Wolbachia* strains using wsp gene sequences. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 265, p. 509-515, 1998.

ZUCCHI, R. A.; QUERINO, R. B.; MONTEIRO, R. C. Diversity and hosts of *Trichogramma* in the New World, with emphasis in South America. In: CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Org.). **Egg parasitoids in Agroecosystems with emphasis on** *Trichogramma*. Dordrecht: Springer, cap 8, p. 219-236, 2010.

# 7 CONCLUSÕES FINAIS

As maiores taxas de parasitismo, para todos os hospedeiros, foram observadas quando utilizada a linhagem Guaraciaba.

As densidades de 4,3 fêmeas e 25,9 ovos de *A. kuehniella*, 4,2 fêmeas e 23 ovos de *N. elegantalis* e 5,6 fêmeas e 44,1 ovos de *S frugiperda* proporcionaram maior percentual de emergência para a linhagem Ubajara.

As maiores taxas de emergência de *T. pretiosum* linhagem Guaraciaba foram obtidas nas densidades de 7,3 fêmeas do parasitoide e 26,4 ovos de A. *kuehniella*, 3,3 fêmeas e 40,1 ovos de *N. elegantalis* e 4,5 fêmeas do inimigo natural e 10,8 ovos de *S. frugiperda*.

As densidades parasitoide/hospedeiro de 6:10 e 3:10 *A. kuehniella*, 6:20 e 6:10 *N. elegantalis*, 9:50 e 9:20 *S. frugiperda* nas linhagens Ubajara e Guaraciaba, respectivamente, apresentaram resultados favoráveis no que se refere à reprodução das linhagens.

As linhagens de *Trichogramma pretiosum* (Ubajara e Guaraciaba) apresentam potencial semelhante nos diferentes tempos de exposição estudados.

A temperatura alterou os parâmetros biológicos, sendo a duração do ciclo das linhagens Ubajara e Guaraciaba decrescente com seu aumento.

A faixa de temperatura mais adequada para o desenvolvimento das linhagens de *T. pretiosum* em ovos de *N. elegantalis* situou-se entre 25°C e 30°C, quando obteve-se o menor ciclo ovo-adulto.

Apesar da utilização das técnicas adequadas não foi verificada presença de *Wolbachia* nas fêmeas de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) linhagens Ubajara e Guaraciaba.

# **8 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Os resultados obtidos nesta pesquisa contribuem para o avanço do conhecimento sobre o desempenho de linhagens de *Trichogramma* coletadas na região da Serra da Ibiapaba, Estado do Ceará. O conhecimento é primordial visando à obtenção da qualidade e melhor atividade dos inimigos naturais em condições de laboratório e campo.

A coleta das linhagens locais e todo o desenvolvimento da pesquisa associado ao "olhar" na parte aplicada, possibilitaram a abertura da IN Soluções Biológicas LTDA., primeira empresa de controle biológico no Estado do Ceará a produzir/multiplicar *Trichogramma pretiosum*, visto que, as empresas que produzem e comercializam o parasitoide estão localizadas especialmente nas regiões Sul e Sudeste do país, e não trabalham com parasitoides adaptados a região do Ceará. A ideia de abertura da empresa surgiu do interesse conjunto com dois outros integrantes do Laboratório de Entomologia Aplicada (LEA), Marianne Gonçalves Barbosa e Ruan Carlos de Mesquita Oliveira, e do apoio incondicional do prof. Patrik Pastori. As informações geradas neste trabalho são pertinentes e de grande valia para a empresa, pois por meio destes, podemos aprimorar a produção das duas linhagens locais de *T. pretiosum* a fim de garantir a qualidade da progênie, visto que as informações obtidas nesta pesquisa possibilitarão a utilização do inimigo natural de forma eficiente para as pesquisas a serem desenvolvidas no LEA e na IN Soluções Biológicas LTDA., aumentando consideravelmente o sucesso dos programas de controle biológico de lepidópteros-praga na região.

Um dos grandes desafios dessa pesquisa foi a oportunidade de desenvolver parte dos trabalhos no 2° melhor curso de Entomologia do mundo, na Universidade da Califórnia - Riverside (UCR). A permanência de seis meses na UCR sob a orientação do prof. Richard Stouthamer, professor do Departamento de Entomologia da UCR e pioneiro em estudos envolvendo a interação Wolbachia x Trichogramma possibilitou promover o aperfeiçoamento da língua inglesa, bem como o aprendizado de uma série de técnicas genéticas sobre a identificação de vespas parasitoides do gênero Trichogramma e seu simbionte bacteriano, Wolbachia. Durante a realização desta etapa da pesquisa, não foi verificada presença de Wolbachia nas linhagens estudadas. Dessa forma, trabalhos futuros são sugeridos visando detectar a bactéria em populações de Trichogramma spp. coletadas na região do Ceará. O trabalho poderá ser realizado em alguma instituição brasileira que trabalhe com essa técnica, ou na Universidade da Califórnia, (UCR), Riverside, Califórnia, uma vez que, o prof. Stouthamer é pioneiro em estudos envolvendo a interação Wolbachia x Trichogramma, e

seu laboratório contém equipamentos sofisticados necessários ao estudo de técnicas para testes moleculares de detecção e identificação de simbiontes. No Brasil poucas Instituições trabalham com esta técnica e os raros trabalhos citados na literatura que envolveram a identificação da bactéria *Wolbachia-Trichogramma* foram realizados em parceria com o prof. Richard Stouthamer.

Trabalhos futuros também são sugeridos no sentido de coletar outras linhagens/espécies de *Trichogramma* spp. em diferentes regiões do Estado do Ceará, visando aprimorar o controle biológico utilizando *T. pretiosum*.

# REFERÊNCIAS

- AHRENS, M. E.; ROSS, K. G.; SHOEMAKER, D. D. Phylogeographic structure of the fire ant *Solenopsis invicta* in its native south American range: Roles of the natural barriers and habitat connectivity. **Evolution**, v. 59, p. 1733-1743, 2005.
- ALMEIDA, R. P.; STOUTHAMER, R. ITS-2 sequences-based identification of *Trichogramma* species in South America. **Brazilian Journal of Biology**, v. 75, p. 974-98, 2015.
- ALMEIDA, R. P.; VAN LENTEREN, J. C.; STOUTHAMER, R. Does *Wolbachia* infection affect *Trichogramma atopovirilia* behaviour? **Brazilian Jounal of Biology**, v. 70, p. 435-442, 2010.
- ANDRADE, G. S.; SERRAO, J. E.; ZANUNCIO, J. C.; ZANUNCIO, T. V.; LEITE, G. L. D.; POLANCZYK, R. A. Immunity of an alternative host can be overcome by higher densities of its parasitoids *Palmistichus elaeisis* and *Trichospilus diatraeae*. **Plos One**, v.5, p. 1-7, 2010.
- ANTOLIN, M. F. Sex ratio variation in a parasitic wasp. II. Diallel cross. **Evolution**, v. 46, p. 1511-1524, 1992.
- AQUINO, M. F. S. 2011. Estudo do comportamento de busca e seleção de hospedeiros dos parasitoides de ovos *Trissolcus basalis* e *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae). 100 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) Universidade de Brasilia, Brasilia, 2011.
- BARBOSA, L. R.; CARVALHO, C. F.; OUZA, B.; AUAD, A. M. Eficiência de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) no controle de *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae) em pimentão (*Capsicum annuum* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, p. 1113-1119, 2008.
- BARBOSA, L. S.; COURI, M. S.; AGUIAR COELHO, V. M. Desenvolvimento de *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas de *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775) (Diptera: Calliphoridae), utilizando diferentes densidades do parasitoide. **Biota Neotropica**, v. 8, p. 49-54, 2008.
- BARBOSA, L. S.; COURI, M. S.; COELHO, V. M. A. Desempenho do parasitoide *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera, Pteromalidae) utilizando como hospedeiro *Cochliomyia macellaria* (Fabricius) (Diptera, Calliphoridae), sob diferentes tempos de exposição. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 54, p. 125-129, 2010.
- BARROS, P. C. S.; COSTA, A. R.; SILVA, P. C.; COSTA, R. A. Torta de filtro como biofertilizante para produção de mudas de tomate industrial em diferentes substratos. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 9, p. 265 270, 2014.
- BENTO, J. M. S.; NARDI, C. Bioecologia e nutrição vs ecologia química: as interações multitróficas mediadas por sinais químicos. In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. (Org.).

- **Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p. 277-296, 2009.
- BERTI, J.; MARCANO, R. Preferência de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) por huevos de diferentes edades de vários hospederos. **Boletin de Entomologia Venezolana**, v. 6, p.77-81, 1991.
- BERTICAT, C.; ROUSSET, F.; RAYMOND, M.; BERTHOMIEU, A.; WEILL, M. High *Wolbachia* density in insecticide-resistant mosquitoes. **Proceeding of the Royal Society**, v. 269, p. 1413-1416, 2002.
- BERTIN, A.; PAVINATO, V. A. C.; PARRA; J. R. P. Fitness-related changes in laboratory populations of the egg parasitoid *Trichogramma galloi* and the implications of rearing on factitious hosts. **BioControl**, v. 62, p. 435-444, 2017.
- BENVENGA S. R.; BORTOLI S. A.; GRAVENA S.; BARBOSA J. C. Monitoramento da broca-pequena-do-fruto para a tomada de decisão do controle do tomateiro estaqueado. **Horticultura Brasileira**, v. 28, p. 435-440, 2010.
- BESERRA, E. B.; PARRA, J. R. P. Biologia e parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Plantner e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 48, p. 119-126, 2004.
- BESERRA, E. B.; PARRA, J. R. P. Impacto do número de camadas de ovos de *Spodoptera frugiperda* no parasitismo por *Trichogramma atopovirilia*. **Scientia Agricola**, v. 2, p. 190-193, 2005.
- BOWEN, W. R.; STERN, V. M. Effect of temperature on the production of males and sexual mosaics in a uniparental race of *Trichogramma semifumatum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 59, p. 823-834, 1996.
- BLACKMER, J. L.; EIRAS, A. E.; SOUZA, C. L. M. Oviposition preference of *Neoleucinodes elegantalis* (Guenee) (Lepidoptera: Crambidae) and rates of parasitism by *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on *Lycopersicon esculentum* in São José de Ubá, RJ, Brazil. **Neotropical Entomology**, v.30, p.89-95, 2001.
- BLEICHER, E.; PARRA, J. R. P. Efeito do hospedeiro de substituição e da alimentação na longevidade de *Trichogramma* spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, p. 1845-1850, 1991.
- BOWMAN, D. D. Introduction to the Alpha-proteobacteria: *Wolbachia* and Bartonella, *Rickettsia*, *Brucella*, *Ehrlichia*, and *Anaplasma*. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 26, p. 173-177, 2001.
- BRINDLEY, T. A. The growth and development of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera) and *Tribolium confusum* Duval (Coleoptera) under controlled conditions of temperature and relative humidity. **Annals of Entomological Society of America**, v. 23, p. 741-757, 1930.

- BRODEUR, J.; BOIVIN, G. Functional ecology of immature parasitoids. **Annual Review of Entomology**, v. 49, p. 27-49, 2004.
- BRODEUR, J.; BOIVIN, G. Functional ecology of immature parasitoids. **Annual Review of Entomology**, v. 49, p. 27-49, 2004.
- BROWNLIE, J. C.; ADAMSKI, M.; SLATKO, B.; MCGRAW, E. A. Diversifying selection and host adaptation in two endosymbiont genomes. **BMC Evolutionary Biology**, v. 7, p. 68, 2007.
- BUENO, R. C. O. F.; PARRA, J. R. P.; BUENO, A. F.; HADDAD, M. L. Desempenho de tricogramatídeos como potenciais agentes de controle de *Pseudoplusia includens* Walker (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, v. 38, p. 389-394, 2009.
- CANDELÁRIA, M. C. 2013. *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae): Densidade e idade do parasitoide e do hospedeiro alternativo e dispersão em plantação de eucalipto. 84 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, 2013.
- CARDOSO, D.; MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V. Influência da densidade de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) sobre a capacidade reprodutiva de fêmeas nulíparas de *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 39, p. 779-786, 1995.
- CARNEIRO. R. T.; FERNANDES, A. O, CRUZ, I. Influência da competição intra-específica entre fêmeas e da ausência de hospedeiro no parasitismo de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) sobre ovos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 53, p. 482-486, 2009.
- CHEN, W. L.; LEOPOLD, R. A.; BOETEL, M. A. Cold storage of adult *Gonatocerus ashmeadi* (Hymenoptera: Mymaridae) and effects on maternal and progeny fitness. **Journal of** *Economic Entomology*, v. 101, p. 1760-1770, 2008.
- CHICHERA, R. A.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; BARBOSA, R. H.; PASTORI, P. L.; ROSSONI, C. Capacidade de busca e reprodução de *Trichospilus diatraeae* e *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Interciencia**, v. 37, p. 852-856, 2012.
- CIOCIOLA JÚNIOR, A. I.; ALMEIDA, R. P.; ZUCCHI, R. A.; STOUTHAMER, R. Detecção de *Wolbachia* em uma população telítoca de *Trichogramma atopovirilia* Oatman and Platner (Hymenoptera, Trichogrammatidae) via PCR com o *primer* específico *wsp*. **Neotropical Entomology**, v. 30, p. 489-491, 2001.
- CIOCIOLA JÚNIOR, A. I.; CRUZ, I. Detecção de *Wolbachia* em *Trichogramma atopovirilia* (Hymrnoptera: Trichogrammatidae) coletado na Embrapa Milho e Sorgo. **Comunicado Técnico 28**. Embrapa, 2 p., 2001.
- CORRIGAN, J. E.; LAING, J. E.; ZUBRICKY, J. S. Effects of parasitoid to host ratio and time of day of parasitism on development and emergence of *Trichogramma minutum*

- (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitizing eggs of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) **Annals of the Entomological Society of America**, v. 88, p. 773-780, 1995.
- COSTA, D. P. 2013. Interações biológicas entre *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) e *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) no parasitismo de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. 82 p. Tese (Doutorado em Agronomia) Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2013.
- CÔNSOLI, F. L.; VINSON, S. B. Clutch size, development and wing morph differentiation of *Melittobia digitata* Dahms (Hymenoptera: Eulophidae). **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 102, p. 135-143, 2002.
- CÔNSOLI, F. L.; WKITAJIMA, E.; PARRA, J. R. P. Ultrastructure of the natural and factitious host eggs of *Trichogramma galloi* Zucchi and *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **International Journal of Insect Morphology and Embryology**, v. 28, p. 211-229, 1999.
- FONSECA, F. L.; ADALECIO KOVALESKI, A.; FORESTI, J.; RINGENBERG, R. Desenvolvimento e Exigências Térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em Ovos de *Bonagota cranaodes* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 945-949, 2005.
- FORESTI, J.; GARCIA, M. S.; BERNARDI, O.; ZART, M.; NUNES, A. M. Biologia, seleção e avaliação de linhagens de *Trichogramma* spp. para o controle da lagarta-da-espiga em milho semente. **EntomoBrasilis**, v. 5, p.1-6, 2012.
- FORNAZIER, M. J.; PRATISSOLI, D.; MARTINS, D. dos S. Principais pragas da cultura do tomateiro estaqueado na região das montanhas do Espírito Santo. In: INCAPER. **Tomate**. Vitória: INCAPER, p.185-226. 2010.
- GRAVENA, S.; BENVENGA, S. R. Manual prático para manejo ecológico de pragas do tomate. Jaboticabal, Gravena-ManEcol LTDA, 144 p, 2003.
- GODFRAY, H. C. J. Evolutionary theory of parent-offspring conflict. **Nature**, v. 376, p. 133-138, 1995.
- GOMES, M. D. A. 2015. **Sustentabilidade de sistemas de cultivo irrigados orgânico e convencional de base familiar**. 78 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.
- GOMES, S. K. S.; CASTRO, M. T. Monitoramento de insetos em plantios de tomate com adubação silicatada. **Biodiversidade**, v. 16, p. 60-67, 2017.
- GONÇALVES, J. R.; HOLTZ, A. M.; PRATISSOLI, D.; GUEDES, R. N. C. Avaliação da qualidade de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 25, p. 485-489, 2003.
- GOULART, R. M.; DE BORTOLI, S. A.; THULER, R. T.; PRATISSOLI, D.; VIANA, C. L. T. P.; VOLPE, H. X. L. Avaliação da seletividade de inseticidas a *Trichogramma* spp.

- (Hymenoptera: Trichogrammatidade) em diferentes hospedeiros. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, p. 69-77, 2008.
- HADDAD, M. L.; PARRA, J. R. P.; MORAES, R. C. **Métodos para estimar os limites térmicos inferior e superior de desenvolvimento de insetos**. FEALQ, Piracicaba 29p., 1999.
- HARRIS, H. L.; BRENNAN, L. J.; KEDDIE, B. A.; BRAIG, H. R. Bacterial symbionts in insects: Balancing life and death. **Symbiosis**, v. 51, p. 37-53, 2010.
- HASSAN, S. A. Strategies to select *Trichogramma* species for use in biological control. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S. A. (Ed.). **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: Oxford University, cap. 3, p. 55-71, 1994.
- HILGENBOECKER, K.; HAMMERSTEIN, P.; SCHLATTMANN, P.; TELSCHOW, A.; WERREN, J. H. How many species are infected with Wolbachia? -a statistical analysis of current data. **FEMS Microbiol Lett**, v. 281, p. 215-220, 2008.
- HOFFMANN, M. P.; WALKER, D. L.; SHELTON, A. M. Biology of *Trichogramma ostriniae* (Hym.: Trichogrammatidae) reared on *Ostrinia nubilalis* (Lep.: Pyralidade) and survey for additional hosts. **Entomophaga**, v. 40, p. 387-402, 1995.
- HOUSEWEART, M. W.; JENNINGS, D.T.; WELTY, C.; SOUTHARD, S. G. Progeny production by *Trichogramma minutum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) utilizing eggs for *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae) and *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Canadian Entomology**, v. 115, p. 1245-1252, 1983.
- IBGE- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Disponível em: <a href="https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618">https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618</a>>. Acesso em: 02 de Maio de 2018.
- INOUE, M. S. R.; PARRA, J. R. P. Efeito da temperatura no parasitismo de *Trichogramma* pretiosum Riley, 1879 sobre ovos de *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819). **Scientia Agricola**, v. 55, p. 222-226, 1998.
- IOWA STATE UNIVERSITY. 1997. **Using degree days in an integrated pest management program**. Iowa State University University Extension Ames, Iowa, Pat-1296 Revisado Junho/1987, Versão eletrônica criada em 1997. Disponível em: <a href="http/www.extension.iastate.edu/publications">http/www.extension.iastate.edu/publications</a>>. Acesso em: 19 de Maio de 2018.
- JALALI, S. K. Natural Occurrence, Host Range and Distribution of Trichogrammatid Egg Parasitoids. In: SITHANANTHAM, S. (Ed.). **Biological control of insect pests using egg parasitoids**, p. 67-76, 2013.
- JIGGINS, F. M; HURST, G. D.; YANG, Z. Host-Symbiont Conflicts: Positive Selection on an Outer Membrane Protein of Parasitic but not Mutualistic Rickettsiaceae. **Molecular Biologyand Evolution**, v. 19, p. 1341-1349, 2002.

- KLOMP, H.; TEERINK, B. J. The elimination of supernumerary larvae of the gregarious egg-parasitoid *Trichogramma embryophagum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in eggs of the host *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Entomophaga**, v. 23, p. 153-159, 1978.
- LOOS, R. A.; SILVA, D. J. H.; FONTES, P. C. R.; PICANÇO, M. C. Identificação e quantificação dos componentes de perdas de produção do tomateiro em ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, v. 26, p. 281-286, 2008.
- MOREIRA, M. D.; SANTOS, M. C. F.; BESERRA, E. B.; TORRES, J. B.; ALMEIDA, R. P. de. Parasitismo e Superparasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Sitotroga cerealella* (Oliver) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Neotropical Entomology**, v. 38, p. 237-242, 2009.
- MAGALHÃES, G. O.; GOULART, R. M.; VACARI, A. M.; BORTOLI, S. A. Parasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em diferentes hospedeiros e cores de cartelas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 79, p. 55-60, 2012.
- MELLO, R. S; AGUIAR-COELHO, V. M. Durations of immature stage development period of Nasonia vitripennis (Walker) (Hymenoptera, Pteromalidae) under laboratory conditions: implications for forensic entomology. **Parasitology Research**, v. 104, p. 411-418, 2009.
- MELLO, R. S.; BORJA, G. E. M.; AGUIAR-COELHO, V. M. Exposure of a single host (*Chrysomya megacephala*) (Calliphoridae) to different quantities of female parasitoids (*Nasonia vitripennis*) (Pteromalidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 53, p. 672-678, 2009.
- MELLO, R. S.; AGUIAR-COELHO, V. M. Durations of immature stage development period of *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera, Pteromalidae) under laboratory conditions: implications for forensic entomology. **Parasitology Research**, v. 104, p. 411-418, 2009.
- MOLINA, R. M. S. 2003. **Bioecologia de duas espécies de** *Trichogramma* **para o controle de** *Ecdytolopha aurantiana* (**Lima, 1927**) (**Lepidoptera: Tortricidae**) **em citros**. 80 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.
- MOLINA, R. M. S.; FRONZA, V.; PARRA, J. R. P. Seleção de *Trichogramma* spp., para o controle de *Ecdytolopha aurantiana* com base na biologia e exigências térmicas. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 49, p. 152-158, 2005.
- MONTLLOR, C.; MAXMEN, A.; PURCELL, A. Facultative bacterial endosymbionts benefit pea aphids *Acyrthosiphon pisum* under heat stress. **Ecological Entomology**, v. 27, p. 189-195, 2002.
- MOREIRA, M. D.; SANTOS, M. C. F.; BESERRA, E. B.; TORRES, J. B.; ALMEIDA, R. P. Parasitismo e superparasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Sitotroga cerealella* (Oliver) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Neotropical Entomology**, v. 2, p. 237-242, 2009.
- MONTOYA, P.; CANCINO, J.; LACHAUD, G. P.; LIEDO, P. Host size, superparasitism and sex ratio in mass-reared *Diachasmimorpha longicaudata*, a fruit fly parasitoid. **Bio Control**, v. 56, p. 11-17, 2011.

- MOURA, A. P.; MICHEREFF FILHO, M.; GUIMARÃES, J. A.; LIZ, R. S. Manejo integrado de pragas do tomateiro para processamento industrial. **Circular Técnica** n. 129, Embrapa Hortalicas, 24 p., 2014.
- MUELLER, L. D.; FOLK, D. G.; NGUYEN, N.; NGUYEN, P.; LAM, P.; ROSE, M. R.; BRADLEY, T. Evolution of larval foraging behavior in *Drosophila* and its effects on growth and metabolic rates. **Physiological Entomology**, v. 30, p. 262-269, 2005.
- NAVARRO, A. M. *Trichogramma* spp.: producción, uso y manejo en Colombia. Guadalajara de Buga: Impretec, 176p., 1998.
- NEIL, K. A.; SPECHT, H. B. Field releases of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera Trichogrammatidae) for suppression of corn carworm, *Heliothis zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae), egg populations on sweet corn in Nova Scotia. **The Canadian Entomologist**, v. 122, p. 1259-1266, 1990.
- NOLDUS, L. P. J. J. Semiochemicals, foranging behavioral and quality of entomophagous insects for biological control. **Journal of Applied Entomology**, v. 108, p. 425-451, 1989.
- NORDLUND, D. A.; WU, Z. X.; GREENBERG, S.M 1997. In vitro rearing of *Trichogramma minutum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) for ten generations, with quality assessment comparions of "in vitro" and "in vivo" reared adults. **Biological Control**, v. 9, p. 201-207, 1997.
- NOYES, J. S. **Universal Chalcidoidea Database**. 2016. Disponível em: <a href="http://www.nhm.ac.uk/research-curation/projects/chalcidoids/">http://www.nhm.ac.uk/research-curation/projects/chalcidoids/</a>>. Acesso em 22 de abril 2018.
- OLIVEIRA, C. M. 2013. **Efeito da densidade e da idade de ovos de** *Neoleucinodes elegantalis* (**Guenée**) (**Lepidoptera:Crambidae**) **sobre parâmetros biológicos e exigências térmicas de** *Trichogramma pretiosum* (**Hymenoptera:Trichogrammatidae**). 66 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2013.
- OLIVEIRA, F. A. L.; SILVA, R. O.; OLIVEIRA, N. R. X.; ANDRADE, G. S.; PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; COUTINHO, C. R.; PASTORI, P. L. Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) with different densities and parasitism periods in *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) pupae. **Folia Biologica** (**Kraków**), v. 66, p. 103-110, 2018.
- OLIVEIRA, H. N.; ZANUNCIO, J. C.; PRATISSOLI D.; CRUZ I. Parasitism rate and viability of *Trichogramma maxacalii* (Hym.: Trichogrammatidae) parasitoid of the Eucaliptus defoliator *Euselasia apison* (Lepidoptera: Riodinidae), on eggs of *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Forest Ecology and Management**, v. 130, p. 1-6, 2000.
- OLIVEIRA, R. C. M. 2017. *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae): parasitismo natural em broca-pequena-do-tomateiro e dispersão em repolho, pepino e milho verde. 60 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, 2017.

- O'NEILL, S. L.; KARR, T. L. Bidirectional incompatibility between conspecific populations of *Drosophila simulans*. **Nature**, v. 348, p. 178-180, 1990.
- PAES, J. P. 2015. **Seleção e caracterização de** *Trichogramma* (**Hymenoptera: Trichogrammatidae**) em *Duponchelia fovealis* **Zeller** (**Lepidoptera: Crambidae**). 83 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2015.
- PARANHOS, B. J.; COSTA, M. L. Z.; OVRUSKI, S. M.; ALVES, R. M.; BLUMMER, L.; WALDER, J. M. M Offspring in response to parental female densities in the fruit fly parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae: Opiinae). **Florida Entomologist**, v. 91, p. 628-635, 2008.
- PARRA, J. R. P.; CÔNSOLI, F. L. Criação massal e controle de qualidade de parasitoides de ovos. In: BUENO, V. H. P. **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Lavras: Editora UFLA, p. 169-197, 2009.
- PARRA, J. R. P. **Técnicas de criação de** *Anagasta kuehniella*, **hospedeiro alternativo para produção de** *Trichogramma*. In: PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (eds.). *Trichogramma* e o controle biológico aplicado. Piracicaba. FEALQ, p. 121-150. 324 p., 1997.
- PARRA, J. R. P. Biological control in Brazil: An overview. **Scientia Agricola**, v. 71, p. 420-429, 2014.
- PARRA, J. R. P., ZUCCHI, R. A., COELHO JR., A., GEREMIAS, L. D., CÔNSOLI, F.L. *Trichogramma* as a tool for IPM in Brazil. p. 472–496. In: VINSON, B., GREENBERG, S.M., LIU, T., RAO, A., VOLOSCIUK, L.F., eds., **Augmentative biological control using** *Trichogramma* spp.: Current status and perspectives. Northwest A&F University Press, China, 2015.
- PARRA, J. R. P.; CÔNSOLI, F. L. Criação massal e controle de qualidade de parasitoides de ovos. In: BUENO, V. H. P. **Controle biológico de pragas: Produção massal e controle de qualidade**. Lavras: Editora UFLA, p. 169-197, 2009.
- PASTORI, P. L., MONTEIRO, L. B.; BOTTON, M. 2008. Biologia e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) linhagem bonagota criado em ovos de *Bonagota salubricola* (Meyrick) (Lepidoptera, Tortricidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 52, p. 472-476, 2008.
- PASTORI, P. L.; PEREIRA, F. F.; ANDRADE, G. S.; SILVA, R. O.; ZANUNCIO, J. C.; PEREIRA, A. I. A. Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) in pupae of two lepidopterans defoliators of eucalypt. **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 38, p. 91-93, 2012.
- PEREIRA, F. F.; BARROS, R.; PRATISSOLI, D.; PARRA, J. R. P. Biologia e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley e *T. exiguum* Pinto & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) criados em ovos de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Neotropical Entomology**, v. 33, p. 231-236, 2004.

- PEREIRA, F. F. ZANUNCIO, J. C.; SERRAO, J. E.; ZANUNCIO, T. V.; PRATISSOLI, D.; PASTORI, P. L. The density of females of *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 82, p. 323-331, 2010.
- PEREIRA, K. D., GUEDES, N. M. P., SERRAO, J. E., ZANUNCIO, J. C., GUEDES, R. N. C. Superparasitism, immune response and optimum progeny yield in the gregarious parasitoid *Palmistichus elaeisis*. **Pest Management Science**, v. 73, p. 1101-1109, 2017.
- PICANÇO, M.; BACCI, L.; CRESPO, A. L. B.; MIRANDA, M. M. M.; MARTINS, J. C. Effect of integrated pest management practices on tomato production and conservation of natural inimies. **Agricultural and Forest Entomology**, v. 9, p. 327-335, 2007.
- PINTO, A. S.; PARRA, J. R. P. Liberações de inimigos naturais. In: PARRA, J.R. P. *et al.* **Controle biológico no Brasil**: Parasitóides e predadores. São Paulo: Manole, p. 325-342, 2002.
- PINTO, J. D.; STOUTHAMER, R. Systematics of the Trichogrammatidae with emphasis on *Trichogramma*. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S. A. (Ed.). **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: CAB International, p. 1-36, 1994.
- PRATISSOLI, D.; LIMA, V. L. S.; PIROVANI, V. D.; LIMA, W. L. Occurrence of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on tomato in the Espírito Santo state. **Horticultura braileira**, v. 33, p. 101-105, 2015.
- PRATISSOLI, D.; PARRA, J. R. P. Desenvolvimento e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley, criados em duas traças do tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, p. 1281-1288, 2000.
- PRATISSOLI, D.; POLANCZYK, R. A.; ANDRADE, G. S.; HOLTZ, A. M.; SILVA, A. F.; PASTORI, P. L. Tabela de vida de fertilidade de cinco linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym.: Trichogrammatidae) criadas em ovos de *Tuta absoluta* (Merick) (Lep.: Gelechiidae), sob temperaturas constantes e alternadas. **Ciência Rural**, v. 37, p. 618-622, 2007.
- PRATISSOLI, D., VIANNA, U. R.; REIS, E. F.; ANDRADE, G. S.; SILVA, A. F. Influência da densidade de ovos de *Spodoptera frugiperda* em alguns aspectos biológicos de três espécies de *Trichogramma*. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 4, p. 1-7, 2005.
- PREZOTTI, L.; PARRA, J. R. P. Controle de qualidade em criações massais de parasitóides e predadores, p.295-307. In J.R.P. Parra, S.M. Botelho, B.S.C. FERREIRA & J.M.S. Bento (eds), Controle biológico no Brasil: Parasitoides e predadores. São Paulo, Manole, 635p., 2002.
- QUERINO, R. B. 2002. **Taxonomia do gênero** *Trichogramma* **Westwood, 1833** (**Hymenoptera: Trichogrammatidae**) **na América do Sul**. 214 p. Tese (Doutorado em Entomologia) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" /ESALQ, Piracicaba, 2002.

- QUERINO, R. B.; MENDES, J. V.; COSTA, V. A.; ZUCCHI, R. A. New species, notes and new records of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in Brazil. **Zootaxa**, v. 4232, p. 137-143, 2017.
- RODRIGUES, S. M. M.; SAMPAIO, M. V. Armazenamento de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em baixas temperaturas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, p. 45-51, 2011.
- RORIZ, V.; OLIVEIRA, L.; GARCIA, P. Host suitability and preference studies of *Trichogramma cordubensis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Biological Control**, v. 36, p. 331-336, 2006.
- ROUSSET, F.; BOUCHON, D.; PINTUREAU, B.; JUCHAULT, P.; SOLIGNAC, M. *Wolbachia* endosymbionts responsible for various alterations of sexuality in arthropods. **Proceedings of the Royal Society**, v. 250, p. 91-98, 1992.
- RUGMAN-JONES, P. F.; HODDLE, M. S.; AMRICH, R.; HERATY, J. M.; STOUTHAMER-INGEL, C.E.; STOUTHAMER, R. Phylogeographic structure, outbreeding depression, and reluctant virgin oviposition in the bean thrips, *Caliothrips fasciatus* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae), in California. **Bulletin of Entomological Research**, v. 102, p. 698-709, 2012.
- RUKMOWATI-BROTODJOJO, R. R.; WALTER, G. H. Oviposition and reproductive performance of a generalist parasitoid (*Trichogramma pretiosum*) exposed to host species that differ in their physical characteristics. **Biological Control**, v. 39, p. 300-312, 2006.
- SAGARRA, L. A.; PETERKIN, D. D.; VINCENT, C.; STEWART, R. K. Immune response of the hibiscus mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* Green (Homoptera: Pseudococcidae), to oviposition of the parasitoid *Anagyrus kamali* Moursi (Hymenoptera: Encyrtidae). **Journal of Insect Physiology**, v. 46, p. 47-653, 2000.
- SANTOS, N. R. 2011. Estudos moleculares de espécies do gênero *Trichogramma* Westwood, 1833 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e detecção de *Wolbachia* (Rickettsiales: Anaplasmataceae). 122 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011.
- SILVA JÚNIOR, R. J. 2009. Capacidade de parasitismo e de desenvolvimento de três espécies de *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Condylorrhiza vestigialis* (Lepidoptera: Crambidae). 102 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.
- SINHA, T. B.; SINGH, R. Studies on the bionomics of *Trioxys (Binodoxys) indicus* [Hym.: Aphidiidae]: effect of population densities on sex ratio. **Entomophaga**, v. 24, p. 289-294, 1979.
- SIQUEIRA, J. R.; BUENO, R. C. O. F.; BUENO, A. F.; VIEIRA, S. S. Preferência hospedeira do parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum*. **Ciência Rural**, v. 42, p. 1-5, 2012.

- SOUZA, A. R. A. 2011. **A interação** *Wolbachia Trichogramma galloi* **Zucchi, 1988** (**Hymenoptera: Trichogrammatidae**). 64 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia). Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.
- SOUZA, I. L. 2014. Controle biológico de pragas do pimentão (*Capsicum annuum* L.) orgânico em cultivo protegido associado a manjericão (*Ocimum basilicum* L.). 61 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.
- SORENSEN, J. G.; ADDISON, M. F.; TERBLANCHE, J. S. Mass-rearing of insects for pest management: Challenges, synergies and advances from evolutionary physiology. **Crop Protection**, v. 38, p. 87-94, 2012.
- SPARKS, A.N. A review of the biology of the fall armyworm. **Florida Entomologist**, v.62, p. 82-87, 1979.
- STOUTHAMER, R.; LUCK, R. F.; WERREN, J. H. Genetics of sex determination and the improvement of biological control using parasitoids. **Environmental Entomology**, v. 21, p. 427-435, 1992.
- STOUTHAMER, R., LUCK, R. F.; HAMILTON, W. D. Antibiotics cause parthenogenetic *Trichogramma* to revert to sex. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 87, p. 2424-2427, 1990.
- STOUTHAMER, R. The use of sexual versus asexual wasps in biological control. **Entomophaga**, v. 38, p. 3-6, 1993.
- STOUTHAMER, R.; BREEUWER, J. A. J.; LUCK, R.F.; WERREN, J. H. Molecular identification of microorganisms associated with parthenogenesis. **Nature**, v. 361, p. 66-68, 1993.
- STOUTHAMER, R. *Wolbachia* induced parthenogenesis. In: O'NEIL, S. C.; WERREN, J. H.; HOFFMAN, A. A. (Ed.). **Influential passengers, inherited microorganisms and arthropod reproduction**. Oxford: Oxford University Press, p. 102-124, 1997.
- STOUTHAMER, R.; HU, J.; VAN KAN, F. J. P. M.; PLATNER, G. R.; PINTO, J. D. The utility of internally transcribed spacer 2 DNA sequences of the nuclear ribosomal gene for distinguishing sibling species of *Trichogramma*. **BioControl**, v.43, p. 421-440, 1999.
- TURELLI, M.; HOFFMANN, A. A.; MCKECHNNIE, S. W. Dynamics of cytoplasmic and mtDNA variation in natural *Drosophila simulans* populations. **Genetics**, v. 132, p. 713-723, 1992.
- TURELLI, M.; HOFFMANN, A. A. Cytoplasmic incompatibility in *Drosophila simulans*: Dynamics and parameter estimates from natural populations. **Genetics**, v. 140, p. 1319-1338, 1995.
- VAN LENTEREM, J. C. Controle de qualidade de agentes de controle biológico produzidos massalmente: conhecimento, desenvolvimento e diretrizes, In: 71 BUENO, V.H.P. (Ed.). **Controle biológico de pragas**: produção massal e controle de qualidade. Lavras: MG: UFLA, Cap. 2, p. 21-40, 2000.

- VAN LENTEREN, J. C. Quality control and production of biological control agentes: theory and testing procedures. Wallingford: CABI, 327 p., 2003.
- VARGAS, C. C.; REDAELLI, L. R.; SANT'ANA, J.; MORAIS, R. M.; PADILHA. P. Influência da idade do hospedeiro e da aprendizagem no comportamento quimiotáxico e no parasitismo de *Trichogramma pretiosum*. **Iheringia, Série Zoologia**, v. 107, p. 1-7, 2017.
- VARGAS, E. L.; PEREIRA, F. F.; CALADO, V. R. F.; GLAESER, D. F.; RODRIGUES, B. A. C.; SILVA, N. V. Densidade de fêmeas de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) por pupa de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Sitientibus série Ciências Biológicas**, v. 13, p. 1-7, 2014.
- VIANNA, U. R.; PRATISSOLI, D.; ZANUNCIO, J. C..; ALENCAR, J. R. C. C.; ZINGER, F. D. Espécies e/ou linhagens de *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, p.81-87, 2011.
- VINSON, S. B. Comportamento de seleção hospedeira de parasitoides de ovos, com ênfase na família Trichogrammatidae. In PARA, J. R. P, ZUCCHI, R. A. *Trichogramma* e o controle biológico aplicado. Piracicaba: FEALQ, cap.4, p.67-120, 1997.
- VOLPE, H. X. L.; BORTOLI, S.A.; THULER, R. T.; VIANA, C. L. T. P.; GOULART. R. M. Avaliação de características biológicas de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) criado em três hospedeiros. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, p. 311-315, 2006.
- VREYSEN, M. J. B.; ROBINSON, A. S. Ionising radiation and area-wide management of insect pests to promote sustainable agriculture: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 1, p. 1-18, 2010.
- WAJNBERG, E. Genetics of the behavioral ecology of egg parasitoids. In: CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on** *Trichogramma*. Dordrecht: Springer, p. 150-159, 2010.
- WALSH, P. S.; METZGER, D. A.; HIGUCHI, R. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. **Biotechniques**, v. 10, p. 506-513, 1991.
- WAJNBERG, E. Genetics of the behavioral ecology of egg parasitoids. In: CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on** *Trichogramma*. Dordrecht: Springer, p. 150-159, 2010.
- WENSELEERS, T.; ITO, F.; VAN BORM, S.; HUYBRECHTS, R.; VOLCKAERT, F.; BILLEN, J. Widespread occurrence of the micro-organism *Wolbachia* in ants. **Proceedings of the Royal Society**, v. 265, p. 1447-1447, 1998.
- WENSELEERS, T.; SUNDSTRÖM, L.; BILLEN, J. Deleterious *Wolbachia* in the ant *Formica truncorum*. **Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Science**, v. 269, p. 623-629, 2002.

- WERREN, J. H.; O'NEILL, S. L. The evolution of heritable symbionts. In: O'NEILL, S. L.; HOFFMANN, A. A.; WERREN, J. H. (Ed.). **Influential passengers**: Inherited microorganisms and arthropod reproduction. Oxford: Oxford University Press, p. 1-41, 1997.
- WERREN, J. H.; JAENIKE, J. *Wolbachia* and cytoplasmic incompatibility in mycophagous *Drosophila* and their relatives. **Heredity**, v. 75, p. 320-326, 1995.
- WÜHRER, B. G.; HASSAN, S. A. 1993. Selection of effective species/strains of *Trcihogramma* (Hym., Trichogrammatidae) to control the diamondback moth *Plutella xylostella* L. (Lep., Plutellidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 116, p 80-89, 1993.
- WYLIE, H. G. Survival and reproduction of *Nasonia vitripennis* (Walker) on different host population densities. **The Canadian Entomologist**, v. 98, p. 273-286, 1996.
- YADAV, R. C.; SINGH, S. P.; JALALI, S. K.; RAO, N. S. Effect of host egg density on parasitism and adult emergence in *Trichogramma chilonis* Ishii (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in two systems. **Journal of Biological Control**, v. 15, p.11-14, 2001.
- ZACHÉ, B. 2012. **Técnicas de criação em laboratório e dispersão do parasitoide de pupas** *Trichospilus diatraeae* (**Hymenoptera: Eulophidae**) **no campo**. 123 p. Tese (Doutorado em Agronomia) Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2012.
- ZAGO, H. B.; BARROS, R.; TORRES, J. B.; PRATISSOLI, D. Distribuição de ovos de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) e o parasitismo por *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera:Trichogrammatidae). **Neotropical Entomology**, v. 39, p. 241-247, 2010.
- ZART, M.; BERNARDI, O.; NUNES, A. M.; ANDERSSON, F. S.; MANFREDI-COIMBRA, S.; BUSATO, G. R.; GARCIA, M. S. Influência do fotoperíodo sobre aspectos biológicos e parasitismo de ovos de *Anagasta kuenhiella* (Lepidoptera: Pyralidae) por *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera, Trichogrammatidae). **EntomoBrasilis**, v. 5, p. 115-119, 2012.
- ZHOU, W. G., ROUSSET, F.; O'NEILL, S. 1998. Phylogeny and PCR-based classification of *Wolbachia* strains using wsp gene sequences. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 265, p. 509-515, 1998.
- ZUCCHI, R. A.; QUERINO, R. B.; MONTEIRO, R. C. Diversity and hosts of *Trichogramma* in the New World, with emphasis in South America. In: CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Org.). **Egg parasitoids in Agroecosystems with emphasis on** *Trichogramma*. Dordrecht: Springer, cap 8, p. 219-236, 2010.