

**Universidade de São Paulo  
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Seleção hospedeira, controle de qualidade *in vivo* e criação *in vitro* de três  
espécies de tricogramatídeos neotropicais**

**Nívia da Silva Dias**

**Tese apresentada para obtenção do título de  
Doutor em Ciências. Área de concentração:  
Entomologia**

**Piracicaba  
2008**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**Nívia da Silva Dias**  
Bióloga

**Seleção hospedeira, controle de qualidade *in vivo* e criação *in vitro* de três espécies de tricogramatídeos neotropicais**

Orientador:  
Prof. Dr. **JOSÉ ROBERTO POSTALI PARRA**

Tese apresentada para obtenção do título de  
Doutor em Ciências. Área de concentração:  
Entomologia

**Piracicaba**  
**2008**

*A Deus, pela dádiva da vida.*

**AGRADEÇO**

*A minha família, que sentiu minha ausência durante a realização do curso de doutorado e demonstrou seu amor, me impulsionando a vencer os obstáculos.*

**OFEREÇO**

*A Pablo Gonzalez Pini por ser uma pessoa especial.*

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

*À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, pelas condições oferecidas;*

*Ao meu orientador, Prof. Parra, pela sua atenção, disponibilidade, orientação e, sobretudo, pela amizade;*

*Ao Prof. Fernando Cônsoli pelas observações e sugestões feitas durante a realização dos experimentos;*

*Aos estatísticos, Prof. Dr. Carlos Tadeu Dias, Dr<sup>a</sup>. Marinéia Haddad e à Dr<sup>a</sup>. Melissa Oda pela colaboração nas análises estatísticas;*

*A CAPES, que viabilizou a minha permanência no curso, fornecendo uma bolsa de doutorado;*

*Ao amigo Cherre Sade, pelas contribuições precisas e por compartilhar comigo os seus saberes;*

*Aos amigos Tiago Costa Lima, Leandro Delalibera e Mariuxi Torres, pelas contribuições acadêmicas;*

*A todos os meus amigos do Curso de Pós-graduação pela troca de experiência e pelas dificuldades e vitórias que vivenciamos;*

*As minhas amigas de todos os momentos: Gerane Celly, Mônica Santos, Vanessa Duarte, Sullivan Pereira, Márcia Regina, Cláudia Fidelis, Maria Fernanda, Katherine Girón e Eliane Grisoto;*

*Aos funcionários do Laboratório de Biologia de Insetos, Neide Graciano e Heraldo Negri pela ajuda indispensável;*

*A todos os colegas do Laboratório de Biologia de Insetos: Adriana Marques, Ademir Neves, Alexandre de Sene, Ângela Lima, Caetano Perlati, Flávia Bento, Nádia Carolina, Sandra Magro, Taís Pinhati e Lucas.*

## SUMÁRIO

RESUMO .....	8
ABSTRACT .....	9
1 INTRODUÇÃO.....	10
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	11
2.1 Potencial de utilização de <i>Trichogramma atopovirilia</i> Oatman & Platner, 1983, <i>Trichogrammatoidea annulata</i> De Santis, 1972 e <i>Trichogramma bruni</i> Nagaraja, 1983.....	11
2.2 Criação de <i>Trichogramma</i> em hospedeiros alternativos .....	13
2.3 Criação <i>in vitro</i> de parasitóides de ovos.....	14
2.4 Composição do meio artificial para <i>Trichogramma</i> .....	16
2.5 Controle de qualidade em criações massais .....	18
Referências .....	22
3 SELEÇÃO DO HOSPEDEIRO ALTERNATIVO PARA <i>Trichogramma atopovirilia</i> Oatman & Platner, 1983, <i>Trichogramma bruni</i> Nagaraja, 1983 E <i>Trichogrammatoidea annulata</i> De Santis, 1972 COM BASE EM CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS .....	31
Resumo .....	31
Abstract.....	31
3.1 Introdução.....	32
3.2 Material e Métodos.....	33
3.2.1 Criação dos parasitóides .....	33
3.2.2 Hospedeiros alternativos .....	34
3.2.3 Delineamento experimental.....	34
3.2.4 Análise estatística .....	35
3.3 Resultados e discussão .....	35
3.3.1 Características biológicas de <i>Trichogrammatoidea annulata</i> , <i>Trichogramma atopovirilia</i> e <i>Trichogramma bruni</i> em diferentes hospedeiros alternativos ao longo de gerações sucessivas de laboratório.....	35
3.3.1.1 Capacidade de parasitismo e longevidade.....	35
3.3.1.2 Duração do período ovo-adulto .....	50
3.3.1.3 Razão sexual.....	50

3.3.1.4 Viabilidade (%) .....	51
3.4 Conclusões.....	54
Referências .....	54
4 TABELA DE VIDA DE FERTILIDADE DE TRÊS ESPÉCIES NEOTROPICAIS DE TRICHOGRAMMATIDAE EM OVOS DE HOSPEDEIROS ALTERNATIVOS COMO CRITÉRIO DE SELEÇÃO HOSPEDEIRA .....	58
Resumo .....	58
Abstract.....	58
4.1 Introdução.....	59
4.2 Material e métodos .....	60
4.2.1 Criação dos parasitóides .....	60
4.2.2 Procedimentos experimentais .....	60
4.3 Resultados e discussão .....	61
4.4 Conclusões.....	66
Referências .....	67
5 SELEÇÃO HOSPEDEIRA E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE <i>Trichogramma atopovirilia</i> Oatman & Platner, 1983, <i>Trichogramma bruni</i> Nagaraja, 1983 E <i>Trichogrammatoidea annulata</i> De Santis, 1972 COM BASE NA CAPACIDADE DE VÔO.....	69
Resumo .....	69
Abstract.....	69
5.1 Introdução.....	70
5.2 Material e métodos .....	71
5.2.1 Criação dos parasitóides .....	71
5.2.2 Procedimentos experimentais .....	72
5.2.2.1 Unidade teste .....	72
5.2.2.2 Delineamento experimental.....	74
5.2.2.3 Análise estatística .....	74
5.3 Resultados e discussão .....	75
5.4 Conclusões.....	81
Referências .....	82

6 CRIAÇÃO <i>in vitro</i> DE <i>Trichogramma atopovirilia</i> Oatman & Platner, 1983, <i>Trichogramma bruni</i> Nagaraja, 1983 E <i>Trichogrammatoidea annulata</i> De Santis, 1972 .....	86
Resumo .....	86
Abstract.....	86
6.1 Introdução.....	87
6.2 Material e métodos .....	88
6.2.1 Aceitação do substrato de oviposição.....	88
6.2.2 Desenvolvimento dos parasitóides na dieta padrão com holotecidos pupais de <i>D. saccharalis</i> .....	89
6.2.3 Desenvolvimento dos parasitóides numa dieta modificada contendo holotecidos pupais de <i>H. virescens</i> .....	89
6.2.4 Qualidade dos parasitóides criados <i>in vivo</i> x <i>in vitro</i> .....	90
6.3 Resultados e discussão .....	90
6.4 Conclusões.....	100
Referências .....	100



## RESUMO

### Seleção hospedeira, controle de qualidade *in vivo* e criação *in vitro* de três espécies de tricogramatídeos neotropicais

*Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983, *Trichogrammatoidea annulata* De Santis, 1972 e *Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983 são espécies que ocorrem naturalmente no Brasil, e assim como outras espécies de tricogramatídeos neotropicais apresentam potencial de utilização em programas de controle biológico. Todavia, para que essa estratégia seja implementada faz-se necessário um sistema eficiente de criação massal, baseando-se, principalmente, na escolha do hospedeiro adequado para multiplicação do parasitóide com qualidade. Normalmente são utilizados os hospedeiros alternativos *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819), *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) e *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865); a produção destes hospedeiros é equivalente a mais de 70% dos custos de produção. Um sistema de criação que independa desses hospedeiros, como a criação *in vitro*, seria ideal para simplificar a linha de produção de parasitóides. Os objetivos deste trabalho foram: 1) selecionar o hospedeiro alternativo mais adequado para criação de *T. atopovirilia*, *T. annulata* e *T. bruni*, e avaliar os efeitos da criação destes parasitóides por sucessivas gerações, em suas características biológicas, incluindo capacidade de vôo e tabela de vida de fertilidade; 2) estudar a viabilidade da criação *in vitro* destas espécies de parasitóides. Concluiu-se que o hospedeiro alternativo afetou as características biológicas e a capacidade de vôo das espécies estudadas. Para *T. atopovirilia*, *C. cephalonica* e/ou *A. kuehniella* foram os hospedeiros alternativos mais adequados para sua criação, enquanto que para *T. annulata* e *T. bruni* *C. cephalonica* foi o hospedeiro preferencial. No entanto, com base na atividade de vôo, *T. bruni* não demonstrou potencial adaptativo ao longo das gerações avaliadas em nenhum dos 3 hospedeiros alternativos. As demais espécies apresentaram potencial adaptativo aos hospedeiros preferenciais. Com base em todos os parâmetros avaliados *S. cerealella* foi o pior hospedeiro para as 3 espécies de parasitóides estudadas. Foi possível a criação *in vitro* de *T. atopovirilia*, desde o parasitismo até a emergência dos adultos, numa dieta artificial composta de holotecidos pupais de *Heliothis virescens* Fabr. (65%), gema de ovo (18%), soro fetal bovino (8,5%), hidrolisado de lactoalbumina (8,5%) e anticontaminantes (0,3%). A dieta não permitiu o desenvolvimento de *T. annulata* e *T. bruni*. Os parasitóides criados *in vitro* apresentaram características semelhantes aos insetos criados *in vivo*, quando foram transferidos para o hospedeiro alternativo.

Palavras-chave: Espécies neotropicais; Seleção hospedeira; Controle de qualidade; Dieta artificial

## ABSTRACT

### **Host selection, *in vivo* quality control and *in vitro* rearing of three neotropical trichogrammatid species**

*Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983, *Trichogrammatoidea annulata* De Santis, 1972 and *Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983 are species that occurs naturally in Brazil and just like other species of Neotropical trichogrammatid, they have potential for utilization in biological control programs. Therefore, for this strategy to be implemented, it is necessary to establish an efficient mass rearing system, based mainly on the choice of suitable hosts for multiplication of quality parasitoids. Frequently used factitious hosts are *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819), *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) and *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865); the cost of production of these hosts is equivalent to more than 70% of the production costs. A rearing system which does not depend on these hosts such as *in vitro* production could be ideal to simplify production of parasitoids. The objectives of this work were to: 1) select the most suitable factitious host for rearing of *T. atopovirilia*, *T. annulata* and *T. bruni*, and evaluate the effect of rearing these parasitoids for successive generations on their biological characteristics including flight capacity and fertility life table and 2) study the viability of *in vitro* rearing of these parasitoids. It was concluded that factitious hosts affected biological characteristics and flight capacity of the studied species. For *T. atopovirilia*, *C. cephalonica* and/or *A. kuehniella* were the most suitable factitious hosts for its rearing, while for *T. annulata* and *T. bruni*, *C. cephalonica* was a preferential host. However, based on flight capacity, *T. bruni* did not demonstrate adaptive potential along the evaluated generations in all the 3 factitious hosts. The other species presented adaptive potential to their preferential hosts. Based on all the evaluated parameters, *S. cerealella* was the worst host for all the 3 parasitoid species studied. *In vitro* rearing of *T. atopovirilia* was possible from parasitism up to adult emergency on artificial diet consisting of holotissues of *Heliopsis virescens* Fabr. (65%), egg yolk (18%), fetal bovine serum (8,5%), lactoalbumin hydrolysate (8,5%) and anti-contaminants (0,3%). The diet did not permit the development of *T. annulata* and *T. bruni*. The *in vitro* reared parasitoids presented similar characteristics to insects reared *in vivo* when they were transferred to factitious hosts.

Key words: Neotropical species; Host selection; Quality control; *In vitro* rearing

## 1 INTRODUÇÃO

A utilização de inimigos naturais têm sido uma prática cada vez mais freqüente em programas de manejo integrado de pragas. Os tricogramatídeos dos gêneros *Trichogramma* e *Trichogrammatoidea* são estudados e empregados no controle biológico de lepidópteros pragas, por meio de liberações inundativas ou inoculativas (HASSAN, 1993).

A importância desses agentes de controle natural tem estimulado o interesse em estudos visando ao desenvolvimento de técnicas de produção massal. Atualmente, estes parasitóides podem ser produzidos em hospedeiros naturais ou alternativos ou em dietas artificiais à base de hemolinfa de insetos (PARRA, 2002).

O método de produção massal de *Trichogramma* foi inicialmente desenvolvido sobre ovos do hospedeiro alternativo *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819) (FLANDERS, 1930; HASSAN, 1997), o que tornou possível a utilização desse parasitóide como agente de controle biológico em muitos países (HASSAN, 1994). Posteriormente, métodos similares de produção massal utilizaram ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) e *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865). No Brasil já existem técnicas bem estabelecidas para multiplicação destes hospedeiros alternativos (PARRA, 1997; BERNARDI et al., 2000; HAJI et al., 2002), para criação massal de *Trichogramma*.

Um dos aspectos ainda discutido é a forma de se desenvolver um sistema eficiente de criação massal, baseando-se, principalmente, na escolha do hospedeiro adequado para multiplicação do parasitóide com qualidade.

Segundo Parra (1993), busca-se a produção de inimigos naturais utilizando dietas artificiais, visando à redução dos custos de produção. Este mesmo autor descreve, que a produção *in vitro* é o método que seria o ideal, dispensando a criação de duas espécies e suprimindo diversas etapas da produção, embora existam ainda muitos problemas.

Assim, torna-se importante o desenvolvimento de pesquisas, a fim de aprimorar metodologias e técnicas de criação destes inimigos naturais *in vivo* e *in vitro*, que forneçam subsídios para incrementar programas de controle biológico de pragas no Brasil. Assim, este trabalho tem como objetivos:

- Selecionar o hospedeiro alternativo mais adequado para *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983, *Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983 e *Trichogrammatoidea annulata* De Santis, 1972 com base nas suas características biológicas;
- Selecionar o hospedeiro alternativo com base em tabelas de vida de fertilidade;
- Selecionar o hospedeiro alternativo e avaliar a qualidade dessas espécies utilizando a capacidade de vôo;
- Adaptar a técnica de criação *in vitro* utilizada para outras espécies de *Trichogramma*, para o desenvolvimento de *T. atopovirilia*, *T. bruni* e *T. annulata*, espécies neotropicais ainda não estudadas no mundo.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Potencial de utilização de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983, *Trichogrammatoidea annulata* De Santis, 1972 e *Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983

A família Trichogrammatidae reúne as principais espécies de parasitóides de ovos mais estudadas e utilizadas atualmente no mundo. Isto se deve à sua ampla distribuição geográfica e por terem um grande número de hospedeiros (ZUCCHI; MONTEIRO, 1997). No Brasil, estão registradas 28 espécies distribuídas em quase todas as regiões. É o país da América do Sul com maior número de espécies do gênero *Trichogramma* conhecidas, associadas a hospedeiros de importância econômica (QUERINO; ZUCCHI, 2003). Os gêneros *Trichogramma* e *Trichogrammatoidea*, de características biológicas semelhantes (PINTO, 1997), destacam-se como os mais utilizados para controle de pragas agrícolas da ordem Lepidoptera (STINNER, 1977; PARRA; ZUCCHI, 2004).

Para que se inicie um programa de controle biológico com esse grupo, deve-se dar ênfase às espécies nativas que podem ser potencialmente importantes no controle e, em alguns casos, com altos índices de parasitismo (MONJE, 1995). Segundo Botelho (1997) o primeiro passo é identificar a(s) espécie(s) que ocorrem nas áreas de cultivo da cultura, além de avaliar a sua eficiência no parasitismo natural da praga visada, pois as espécies locais são geralmente

selecionadas para liberação, de acordo com o princípio ecológico de que essas são mais adaptadas para o clima local, hábitat e condições do hospedeiro (PARRA et al., 1987).

Devido ao grande número de espécies nativas no Brasil, são grandes as perspectivas de sucesso com o uso de tricogramatídeos para o controle de pragas, em vista da diversidade de cultivos com potencial de implementação de programas de controle biológico e o grande número de espécies descritas (ZUCCHI; MONTEIRO, 1997). Além disso, o movimento de grupos nacionalistas em alguns países para restringir a importação de organismos para controle biológico reforça a importância de que as efetivas espécies nativas devam ser identificadas, especialmente durante os primeiros passos da seleção (WAJNBERG et al., 1994).

No Brasil, estudos vêm sendo desenvolvidos visando ao emprego de espécies de tricogramatídeos nativos no controle de pragas-chaves em diversas culturas. Estes incluem *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983, para o controle de *Gymnandrosoma aaurantianum* Lima (Lepidoptera: Tortricidae) em citros (GOMEZ-TORRES, 2005; MOLINA et al., 2005) e *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae) em batata (DOMINGUES, 2006). Além disso, *T. atopovirilia* apresenta potencial para o controle da broca-das-cucurbitáceas, *Diaphania hyalinata* L., (MELO et al., 2007), *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (CAÑETE; FOERSTER, 2003), *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (RESENDE; CIOCIOLA, 1996) e *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (BESERRA; PARRA, 2004).

Nava et al. (2007) mostraram que *T. atopovirilia* e *Trichogrammatoidea annulata* De Santis, 1972, apresentam potencial de controle para *Stenoma catenifer* Walsingham, 1912 (Lepidoptera: Elachistidae), em abacateiro, em condições de semi-campo.

*Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983 e *T. annulata* foram registradas sobre ovos de *S. catenifer* e *Hypocala andremona* (Lepidoptera: Noctuidae), alcançando níveis de parasitismo natural de até 40% e 50% dos ovos da praga, respectivamente (HOHMANN; MENEGUIM, 1993; HOHMANN; LOVATO, 2003).

## 2.2 Criação de *Trichogramma* em hospedeiros alternativos

Em programas de Manejo de Pragas, a utilização do controle biológico Clássico ou Aplicado tem um papel importante como estratégia de controle de pragas agrícolas. A eficiência biológica, aliada ao reduzido risco ecológico (CRUZ, 2002) que esses organismos representam ao ecossistema, têm como consequência a conservação e o uso sustentável da biodiversidade (WAAGE, 1996).

A utilização do Controle Biológico, seja ele Clássico ou Aplicado, exige a criação desses inimigos naturais para que possam ser liberados de forma inoculativa ou inundativa, respectivamente. Desta forma, há a necessidade do desenvolvimento de técnicas de criação, que permitam a produção de inimigos naturais em quantidades suficientes para que possam ser liberados no campo e funcionem como agentes de controle (PARRA, 1992).

A forma clássica de criação de inimigos naturais é sobre o hospedeiro natural embora esta apresente uma série de dificuldades, tais como, necessidade de se criarem 2 espécies de insetos (o hospedeiro e o inimigo natural), dificuldade de criação dessas pragas, muitas vezes em dietas artificiais caras (HASSAN, 1997), ainda é a forma mais utilizada no mundo (PARRA, 1992). Existem alguns casos em que é possível a criação destes agentes de controle biológico sobre hospedeiros alternativos, podendo ser citado, como exemplo clássico, a multiplicação de *Trichogramma* sobre ovos de traças de grãos armazenados, que podem ser facilmente criadas em dietas de trigo, germe-de-trigo ou farinha, como as espécies *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879), *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819) e *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1866) (FLANDERS, 1930; LEWIS et al. 1976).

Em situações particulares, como é o caso da China, que usualmente liberam *Trichogramma* em grandes áreas para controle de diversas pragas, além de utilizarem *C. cephalonica*, utilizam também ovos ou óvulos dos bichos-da-seda, *Philosamia cynthia* Rebel e *Antheraea pernyi* (Guérin-Méneville), como hospedeiros alternativos, devido à disponibilidade destes hospedeiros, que acabam por reduzir os custos de produção (PARRA, 1986; 2002). Bernardi et al. (2000) demonstraram que *C. cephalonica* pode ser utilizada em programas de criação massal de espécies de *Trichogramma* no Brasil, desenvolvendo uma técnica de produção que diminui a mão-de-obra para produção do hospedeiro alternativo.

Para o programa de manejo integrado da traça-do-tomateiro *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917), na região do Submédio do São Francisco, a Embrapa Semi-Árido deu início, em 1990, com eficiência e qualidade, à produção massal de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879, utilizando ovos de *S. cerealela* (HAJI et al., 2002).

Embora a criação de *S. cerealela* seja mais fácil de ser feita em larga escala (HASSAN, 1997), no Brasil utilizam-se ovos *A. kuehniella* para criação de *T. pretiosum* devido à melhor aceitação pelo parasitóide (PARRA, 1997). Para *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988, Gomes e Parra (1998) demonstraram que ovos de *C. cephalonica* foram mais adequados para criação deste parasitóide do que ovos de *S. cerealela* ou *A. kuehniella*. Além disso, relataram que a escolha do hospedeiro de criação adequado é de suma importância na etapa de criação em laboratório, afetando características importantes como parasitismo e emergência, podendo comprometer o programa de controle biológico.

No entanto, um dos grandes problemas da criação de inimigos naturais sobre hospedeiros alternativos e/ou natural está associado aos custos de produção do hospedeiro, pois mais de 70% dos gastos totais da criação são para a produção dos hospedeiros de criação (PARRA, 2002; NEWTON, 1993). Desta forma, surgiu a necessidade de simplificar a linha de produção de inimigos naturais, criando-os em dietas artificiais.

### **2.3 Criação *in vitro* de parasitóides de ovos**

Desde o século passado, tem-se dado ênfase à produção de inimigos naturais em dietas artificiais (*in vitro*); esta técnica foi inicialmente desenvolvida com o propósito de estudar aspectos relacionados à fisiologia, biologia e nutrição de parasitóides (PRELL, 1915); posteriormente, ela foi vista como técnica alternativa para a produção desses agentes de controle para o uso em programas de controle de pragas. Esta técnica é a forma ideal de criação, pois dispensa a criação de uma espécie de inseto (hospedeiro) no processo de produção, eliminando uma série de etapas e, como consequência, reduzindo os custos de produção (PARRA, 1986; 2002) em cerca de 50%, quando comparado aos custos da produção desses insetos utilizando-se hospedeiros alternativos (DAI et al., 1991).

Os estudos têm avançado e a produção *in vitro* vêm sendo desenvolvida especialmente para as espécies que apresentam potencial como agentes de controle biológico (CÔNSOLI; PARRA

2002). Em revisão dos avanços obtidos na criação e desenvolvimento de parasitóides em meios artificiais, registrou-se a criação de 73 espécies de parasitóides em meios artificiais, obtendo-se sucesso parcial ou total em muitos casos. Dentre as espécies criadas, 16 pertencem à ordem Diptera e 57 à ordem Hymenoptera. Entre Hymenoptera destacam-se os parasitóides de ovos da família Trichogrammatidae, Scelionidae, Encyrtidae, Eulophidae, Eupelmidae e Tetrastichidae (CÔNSOLI; PARRA 1997; 1999a; 2002).

Embora esses inimigos naturais tenham sido criados em dietas artificiais com o objetivo de serem utilizados em programas de controle biológico, apenas as espécies *T. confusum*, *T. dendrolimi* e *Anastatus japonicum* foram produzidas em larga escala, o que permitiu a liberação em áreas extensas para controle de diferentes pragas (DAI et al., 1988; HAN et al., 1988). Um dos poucos casos de sucesso de criação de um parasitóide de ovos *in vitro*, é a produção de *Trichogramma*, pelos chineses, em ovos artificiais formados por uma membrana plástica de polietileno (LI et al., 1988). O sucesso na criação desses parasitóides na China se tornou realidade com o desenvolvimento de um sistema automatizado, que permitia a produção diária de 30 a 43 milhões de indivíduos de *T. dendrolimi* e de 17 a 23 milhões de *T. chilonis*, com um custo 50% menor do que em sistemas de criação convencionais (DAI et al., 1991). Além disso, outros fatores que contribuem para a redução nos custos de produção em sistemas de produção em dietas artificiais na China, são a facilidade de obtenção de componentes de insetos hospedeiros, no caso o homogeneizado de pupas de bicho-da-seda, subproduto da indústria de seda e o desenvolvimento de técnicas de armazenamento de dietas por longos períodos (LIU et al., 1993).

A evolução nos estudos de meios artificiais para desenvolvimento de parasitóides de ovos tem ocorrido de forma progressiva, além da China em países como Austrália (NOTARTE; MERRITT 2001; HESLIN et al., 2005a; 2005b), EUA (HU et al., 1998; XIE et al., 1986; 1997; NORDLUND; GREENBERG, 1997; VOLKOFF et al., 1992; VOLKOFF; VINSON, 1991), França (GRENIER et al., 1995; 1998) e Brasil (CÔNSOLI; PARRA, 1999a; 2002), com sucesso parcial ou total em muitos casos. No entanto, nestes países são ainda necessários muitos estudos básicos para que os resultados obtidos possam ser melhorados, visando à aplicação deste sistema de criação na produção de inimigos naturais para utilização em campo.

Hoffman et al. (1975) criaram *Trichogramma pretiosum* Riley, de ovo a adulto, em dieta artificial. Os autores verificaram que a porcentagem de pupação e emergência dos adultos foram semelhantes para os dois sistemas de criação (*in vivo* e *in vitro*). Os parasitóides criados sobre



dieta artificial acasalaram e ovipositaram de forma semelhante àqueles criados *in vivo*. Entretanto, aproximadamente 60% dos adultos criados em meio artificial não expandiram completamente as asas.

No Brasil, único país na América do Sul a desenvolver pesquisas na área de criação *in vitro* de parasitóides, Parra e Cònsoli (1992) e Cònsoli e Parra (1994) foram os primeiros a obter a criação de parasitóides de ovos (*T. pretiosum* e *T. galloi*) neste sistema de criação, com resultados comparáveis àqueles obtidos pelos chineses, devido ao desenvolvimento de uma dieta artificial adequada e à utilização de ovos artificiais formados por uma membrana plástica de polietileno, que devido às suas características físicas proporcionou melhor aceitação pelos parasitóides (CÔNSOLI; PARRA, 1999b).

## 2.4 Composição do meio artificial para *Trichogramma*

Diferentes compostos têm sido utilizados na formulação de meios artificiais para a criação *in vitro* das espécies de *Trichogramma*. Os meios mais comuns são formados basicamente por componentes derivados de insetos, tais como, hemolinfa de larvas, holotecidos pupais ou homogeneizado de ovos de espécies de lepidópteros (GRENIER, 1997). Estes componentes são ricos em aminoácidos livres, açúcares, proteínas, lipídeos, hormônios e fatores de crescimento, essenciais para o metabolismo do inseto (STRAND; VINSON, 1985; XIE et al., 1986; IRIE et al., 1987; BRATTI; NETTLES, 1988; GUERRA, 1992; BRATTI; COULIBALY, 1995).

A primeira dieta artificial utilizada para a criação de espécies do gênero *Trichogramma* foi composta de plasma de hemolinfa de lagartas de *Helicoverpa zea* Boddie (HOFFMAN et al., 1975). Posteriormente, foram desenvolvidas dietas mais elaboradas, que continham compostos como gema de ovo, suspensão de leite em pó, soro fetal bovino e anticontaminantes (CÔNSOLI; PARRA, 1997), fornecendo subsídios para que novas dietas fossem desenvolvidas. Estudos subseqüentes utilizaram dietas holídicas (compostas por aminoácidos livres, carboidratos, ácidos graxos, vitaminas e sais minerais e inorgânicos) para o desenvolvimento de *T. minutum* durante dez gerações sucessivas (NORDLUND; GREENBERG, 1997).

Assim, para a grande maioria das espécies de *Trichogramma* estudadas, as dietas artificiais contêm componentes derivados do hospedeiro, o que não elimina a necessidade de criação de outro inseto. Desta forma, vários estudos têm buscado o desenvolvimento de

*Trichogramma* em meios sem componentes de insetos (HESLIN et al., 2005a, 2005b; NOTARTE; MERRITT, 2001; GRENIER et al., 1995; XIE et al., 1986, WU et al., 1982).

Os primeiros trabalhos, buscando o desenvolvimento de um meio desprovido de componentes de insetos, utilizaram hidrolisado de levedura, soro fetal bovino, meio de cultura de Grace, extrato de embrião de galinha, leite de vaca e gema de ovo de galinha, o que permitiu o desenvolvimento de adultos de *T. dendrolimi*, porém com baixo rendimento (56% de pupas e 16% de adultos) (WU et al., 1982; LIU; WU, 1982). Posteriormente, Grenier et al. (1995) utilizaram um meio contendo hidrolisado de levedura, gema de ovo de galinha, leite de vaca, sais, vitaminas e proteínas. O desenvolvimento de *T. dendrolimi* neste meio foi melhor do que aquele obtido anteriormente, resultando em 64% de desenvolvimento de pupas e adultos. Com um meio contendo gema de ovo de galinha ultracentrifugado, leite em pó, meio de cultura de Grace e extrato de levedura, Xie et al. (1997) obtiveram 94% de pupas e 28% de adultos de *T. minutum*. Estes autores concluíram que a gema de ovo de galinha ultracentrifugada, adicionada ao meio artificial, forneceu um alto conteúdo de proteínas, aproximando-se da concentração de proteína encontrada nos ovos hospedeiros.

Com a substituição da hemolinfa nos meios artificiais, são poucos os trabalhos que obtiveram sucesso no desenvolvimento destes parasitóides até a fase adulta. Os adultos obtidos, em algumas situações, apresentaram elevada porcentagem de deformação (abdome avantajado, asas não distendidas) (GRENIER, 1997).

Na busca de uma alternativa para a substituição da hemolinfa, além de meios de cultura de células de insetos, foram testadas células de insetos em meios pré-condicionados para a criação *in vitro* de *Trichogramma*. O interesse por essas células é resultado da fácil manutenção em condições de laboratório, além de apresentarem alta qualidade e poderem ser produzidas massalmente, com a utilização de bioreatores (NOTARTE; MERRITT, 2001). Estes autores foram os primeiros a utilizar esse meio como componente majoritário para a criação de parasitóides de ovos do gênero *Trichogramma*. Com esse procedimento demonstraram que células de *Helicoverpa zea* podem substituir, com sucesso, a hemolinfa para a criação de *T. australicum*. Além disso, obtiveram maior emergência, elevada proporção de adultos normais e fêmeas mais fecundas em relação aos indivíduos criados em dieta com hemolinfa. Provavelmente, o meio de cultura de células de insetos fornece nutrientes não encontrados na

hemolinfa ou pode ser que a dieta com o meio de cultura seja mais adequada para a ingestão devido à incorporação de partículas sólidas de tamanho e textura apropriadas.

Trabalhos subseqüentes, tomando como base o meio artificial utilizado por Notarte e Merritt (2001), registraram sucesso no desenvolvimento de *T. pretiosum* até a fase adulta. Heslin et al. (2005a) compararam o efeito da dieta contendo células de insetos com dietas contendo o meio de cultura de células. A remoção das células de insetos do meio de cultura resultou numa maior mortalidade do período larva-pupa, provavelmente devido à redução do valor nutricional da dieta. Além disso, as propriedades físicas do meio, necessárias para o desenvolvimento do parasitóide, reforçam a necessidade de dietas semi-sólidas para ingestão da larva (JARJEES et al., 1998).

O armazenamento destas células é importante para facilitar a produção massal de *Trichogramma*; estas células podem ser armazenadas a 4°C durante 7 dias, sem produzir toxinas e sem afetar o desenvolvimento do parasitóide. O uso de células de insetos na substituição da hemolinfa em dietas artificiais poderá simplificar a produção de *Trichogramma*, pela redução dos custos, melhorando o sistema de produção do parasitóide (HESLIN et al., 2005a).

## **2.5 Controle de qualidade em criações massais**

O controle de qualidade é aplicado a organismos criados em larga escala para manter a qualidade da população (VAN LENTEREN, 2003a). Segundo Van Lenteren (2003a; 1991) a qualidade total do inimigo natural pode ser definida como a capacidade deste organismo controlar a praga eficientemente após a liberação em campo.

Leppla e Ashley (1989) definiram o controle de qualidade como sendo o monitoramento e controle sofisticado do complexo processo de produção para programa de criação massal que assegurem uma qualidade razoavelmente consistente do produto e garantam que tal produto alcance a performance desejada no campo.

Em programas de Controle Biológico Aplicado, nos quais são produzidos milhares de parasitóides e/ou predadores em laboratório, a qualidade do inimigo natural é fundamental para que haja sucesso no campo. Desta forma, o principal objetivo de qualquer laboratório de criação massal é a produção de um grande número de inimigos naturais para subseqüentes liberações num programa de controle biológico, o que exige um rigoroso controle com relação ao número e,

principalmente, à qualidade dos insetos liberados para a obtenção de sucesso no controle (CLARKE; McKENZIE, 1992; PREZOTTI; PARRA, 2002).

A baixa qualidade de inimigos naturais pode resultar em “propaganda negativa” desse método de controle e comprometer todo um programa desenvolvido ao longo de muitos anos de pesquisa. O controle de qualidade surge, portanto, como uma peça fundamental em programas de criação massal, visando identificar problemas de produção, indicar sinais de deterioração da linhagem ao longo das gerações de criação e, principalmente, garantir aos usuários desse método de controle a qualidade do produto adquirido (PREZOTTI; PARRA, 2002).

Somente na metade da década de 80 o controle de qualidade em criações massais de inimigos naturais passou a despertar o interesse, e pouco tempo depois foi ganhando espaço (VAN LENTEREN, 1986). Nos últimos anos, a preocupação com a qualidade de inimigos naturais criados em laboratório tem aumentado bastante, principalmente em função da expansão do uso do controle biológico e da exigência, por vários países, de normas rígidas, que garantam a eficiência desse método de controle, para permitir o seu uso na agricultura (BIGLER, 1992).

As primeiras discussões foram realizadas durante o quinto “Workshop” da Organização Internacional para o Controle Biológico (IOBC) entre o grupo de trabalho sobre “Controle de Qualidade de Artrópodes Criados Massalmente”, produtores de inimigos naturais e cientistas (BIGLER, 1991). Uma série de “Workshops” sobre o mesmo assunto seguiu-se a esse, resultando em diretrizes sobre controle de qualidade, para cerca de 20 espécies de inimigos naturais (VAN LENTEREN, 2003a, 2003b). Van Lenteren (1992) divulgou as recomendações elaboradas por aquele grupo para o controle de qualidade em criações de diversos inimigos naturais utilizados em ambientes protegidos.

Os sistemas de criação dos parasitóide produzidos em escala massal devem permitir a produção de organismos com qualidade biológica similar aos insetos encontrados na natureza. A maioria dos laboratórios de criação massal monitora a qualidade dos inimigos naturais com base, principalmente, em parâmetros biológicos fáceis de serem medidos, como fecundidade, viabilidade de ovos, peso de larvas e pupas, emergência, razão sexual, mortalidade, longevidade, habilidade de vôo e competitividade de cópula (CLARKE; McKENZIE, 1992).

Atualmente, a recomendação da IOBC-QC para *Trichogramma*, é selecionar, preliminarmente, com critérios rigorosos, linhagens e espécies com base em características biológicas e comportamentais (HASSAN, 1994; 1997). Os testes indicados para uso durante a

fase de produção massal são: determinação da porcentagem de emergência, razão sexual, fecundidade, longevidade, locomoção (caminhamento e vôo), aceitação do hospedeiro (natural) e identificação das espécies/linhagens (BIGLER, 1994).

A seleção de uma espécie de *Trichogramma* para uso em liberação inundativa para controle de uma praga em particular, deve ser baseada em experimentos de laboratório, semi-campo e campo, utilizando várias espécies e linhagens potenciais (HASSAN, 1993). A preferência hospedeira, comportamento de busca e tolerância às condições ambientais são os mais importantes critérios de seleção (HASSAN, 1989).

No Brasil, em programas de controle de qualidade para *T. pretiosum* o monitoramento das populações de laboratório foi simplificado direcionando as avaliações apenas para as variáveis longevidade, parasitismo e atividade de vôo. O teste de vôo mostrou-se altamente sensível na determinação da qualidade de populações de *T. pretiosum*, em condições de laboratório, além de ser relativamente barato, rápido e fácil de ser repetido sob condições padronizadas (PREZOTTI et al., 2002).

A maioria das pesquisas em controle biológico tem se concentrado em técnicas para maximizar a produção dos inimigos naturais; no entanto, argumenta-se que a qualidade e não a quantidade é crucial para que o programa de controle biológico obtenha sucesso. A grande quantidade de insetos produzidos não significa que estes organismos possuam capacidade suficiente para competir com insetos selvagens. A criação do inimigo natural por muitas gerações sob condições uniformes e em hospedeiros alternativos pode comprometer a tolerância às condições naturais extremas e ocasionar a perda da preferência pelo hospedeiro alvo (SMITH, 1996).

Além desses fatores, mais recentemente Van Lenteren (2003a, 2003b) listou importantes fatores que podem ocasionar mudanças em populações de laboratório:

- 1) as populações de laboratório são mantidas em ambientes constantes com fatores abióticos estáveis e bióticos constantes, não havendo seleção para contrapor às pressões inesperadas, resultando em mudanças no critério que determina a adaptabilidade e uma modificação de todo o sistema genético; 2) não há competição interespecífica nas populações de laboratório como resultado de uma possível mudança na variabilidade genética; 3) as condições de laboratório são apropriadas para um genótipo médio, algumas vezes para aquele mais pobre. Nenhuma mudança de ambiente é possível se todos os indivíduos forem confinados no mesmo

ambiente. O resultado é um possível decréscimo na variabilidade genética; 4) comportamentos dependentes da densidade (ex. eficiência de busca) podem ser afetados no laboratório; 5) processos de seleção no acasalamento podem ser alterados porque fêmeas não copuladas ou previamente copuladas terão dificuldade para dispersar; 6) características de dispersão, especialmente de vôo do adulto e dispersão larval, podem ser severamente restringidas em condições de laboratório.

Um dos maiores obstáculos do controle de qualidade é a detecção da perda da variabilidade genética. Muitos autores têm sugerido medidas de se contornar o problema de provável deterioração genética, embora tenham ciência de que as causas dessa deterioração não são tão facilmente identificadas, demandando estudos genéticos detalhados, para a medição de caracteres genéticos deletérios. As mudanças genéticas ocorrem naturalmente quando uma colônia de insetos é iniciada, e também quando um organismo vai de um ambiente para outro (BARTLETT, 1984a).

A variabilidade de desempenho é geralmente comum em populações naturais, e pode permanecer alta mesmo em populações consangüíneas. Mas, as diferenças entre situações do campo e laboratório resultarão em diferenças na variabilidade. Parte de uma “população aberta”, onde a migração do gene pode ocorrer e a diversidade ambiental é grande, é quebrada dentro do laboratório, tornando-se uma “população fechada” e todas as mudanças genéticas virão de uma variação genética limitada dos fundadores originais. Esta deterioração genética também pode ser responsável para explicar a alta mortalidade dos materiais recém-introduzidos e por algumas das reduções de tamanho que ocorrem, de tempos em tempos, em colônias criadas massalmente, sem explicação aparente (BARTLETT, 1984a). Dessa forma, a deriva genética (efeito fundador) é o mais importante dos processos aleatórios que influenciam a freqüência gênica de uma colônia de laboratório.

Um outro efeito da colonização de laboratório é a endogamia (acasalamentos de parentes), pois implica na produção de progênie mais homozigótica do que quando ocorrem acasalamentos ao acaso em grandes populações; esses indivíduos homozigóticos, em geral, contêm características indesejáveis. O endocruzamento é diretamente relacionado ao tamanho da população fundadora e, devido à seleção artificial no laboratório, que resulta em uma população ainda menor, a taxa de endocruzamento aumentará e o resultado é geralmente um efeito definido e rápido sobre a composição genética da população do laboratório (BARTLETT, 1984b).

Uma questão fundamental para esse problema de endogamia é o tamanho efetivo de uma população para manter uma variação genética suficientemente grande. Para manter uma heterogeneidade suficiente, uma colônia não deverá declinar abaixo do número de insetos fundadores. Embora não exista acordo em relação ao tamanho da população fundadora para iniciar uma produção massal, um mínimo de centenas de indivíduos é mencionado na literatura (BARLETT, 1985). Segundo Mackauer (1976), uma colônia com aproximadamente 500 indivíduos, coletados no campo em uma área convenientemente grande devem incluir um nível de diversidade genética que caracterize a população parental de maneira adequada para a maioria dos programas de controle biológico. Para Bartlett (1985) um número mínimo de mil indivíduos seria uma quantidade adequada. Outros autores consideram de 250 a 500 indivíduos uma quantidade suficiente para iniciar uma colônia (WAAGE et al., 1985). Prezotti et al. (2004) observaram que criações de populações sexuadas de *T. pretiosum* podem ser iniciadas com apenas um casal e mantidas durante, pelo menos, 25 gerações de laboratório sem que sua qualidade seja comprometida.

## Referências

BARTLETT, A.C. Establishment and maintenance of insect colonies through genetic control. In: KING, E.C.; LEPPLA, N.C. (Ed.). **Advances and challenges in insect rearing**. New Orleans: USDA/ARS, 1984a. chap. 1, p.1.

\_\_\_\_\_. Genetic changes during insect-domestication. In: KING, E.C.; LEPPLA, N.C. (Ed.). **Advances and challenges in insect rearing**. New Orleans: USDA/ARS, 1984b. chap. 2, p. 2-8.

\_\_\_\_\_. Guidelines for genetic diversity in laboratory colony establishment and maintenance. In: SINGH, P.; MOORE, R.F. (Ed.). **Handbook of insect rearing**. Amsterdam: Elsevier, 1985. chap. 1. p.7-17.

BERNARDI, E.B.; HADDAD M.L; PARRA J.R. Comparison of artificial diets for rearing *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865) (Lep., Pyralidae) for *Trichogramma* mass production. **Revista Brasileira de Biologia**, São Carlos, v.60, p.45-52, 2000.

BESERRA, E.B; PARRA, J.R.P. Biologia e parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em ovos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v. 48, p. 119-126, 2004.

BIGLER, F. Quality control of mass reared arthropods. In: WORKSHOP IOBC GLOBAL WORKING GROUP "QUALITY CONTROL OF MASS REARED ARTHROPODS", 1991, Wageningen. Wageningen: OILB/IOBC, 1991. p.25-29.

\_\_\_\_\_. Quality control of mass reared arthropods. In: WORKSHOP IOBC GLOBAL WORKING GROUP "QUALITY CONTROL OF MASS REARED ARTHROPODS", 1992, Wageningen. Wageningen: OILB/IOBC, 1992. p.22-26.

\_\_\_\_\_. Quality control in *Trichogramma* production. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S.A. (Ed.). **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: CAB International, 1994. chap. 5 p. 93-112.

BOTELHO, P.S.M. Eficiência de *Trichogramma* em campo. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Trichogramma e o Controle Biológico Aplicado**. Piracicaba: Fealq, 1997. cap. 11, p. 303-318.

BRATTI, A.; NETTLES Jr., W.C. *In vitro* rearing of *Palexorista laxa* (CURRAN) (Diptera: Tachinidae) on haemolymph-based diets. **Bolletino dell Istituto di Entomologia**, Bologna, v.43, p.25-30, 1988.

BRATTI, A.; COULIBALY, A.K. *In vitro* rearing of *Exorista larvarum* on tissue culture-base diets. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v.74, p.47-53, 1995.

CAÑETE, C.L.; FOERSTER, L.A. Incidência natural e biologia de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em ovos de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera, Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v. 47, p. 201-204, 2003.

CLARKE, G.M.; MCKENZIE, L.J. Fluctuating asymmetry as a quality control indicator for insect mass rearing processes. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 85, p. 2045-2050, 1992.

CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P. Desenvolvimento de dietas artificiais para a criação "in vitro" de *Trichogramma galloi* e *T. pretiosum*. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 4., Gramado. **Resumos...** Gramado:SEB, 1994. p. 264.

\_\_\_\_\_. Development of an oligidic diet for *in vitro* rearing of *Trichogramma galloi* Zucchi and *Trichogramma pretiosum* Riley. **Biological Control**, Oxford, v. 8, p. 172-176, 1997.

\_\_\_\_\_. *In vitro* rearing of parasitoids: constraints and perspectives. **Trends in Entomology**, London, v. 2, p. 19-32, 1999a.

\_\_\_\_\_. Development of an artificial host egg for *in vitro* egg laying of *Trichogramma galloi* and *T. pretiosum* using plastic membranes. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 91, p. 327-336, 1999b.



\_\_\_\_\_. Criação *in vitro* de parasitóides e predadores In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil, parasitóides e predadores**. Barueri: Manole, 2002. cap. 15, p. 249-271.

CRUZ, I. Controle biológico em manejo integrado de pragas In: PARRA, J.R.P.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BOTELHO, P.S.M.; BENTO, J.M.S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil, parasitóides e predadores**. Barueri: Manole, 2002. cap. 32, p. 543-570.

DAI, K.J.; ZHANG, L.W.; MA, Z.J.; ZHONG, L.S.; ZHANG, Q.K.; CAO, A.; XU, K.; LI, Q.; GAO, Y. Research and utilization of artificial host egg for propagation of parasitoid *Trichogramma*. **Les Colloques de l' Inra**, Paris, v. 43, p. 311-318, 1988.

DAI, K.J.; MA, Z.J.; ZHANG, L.W.; CAO, A.H.; ZHANG, Q.X.; XU, K.J.; PAN, D.S.; ZHANG, J.L. Research on technology of industrial production of the artificial host egg of *Trichogramma*. **Les Colloques de l' Inra**, Paris, v. 56, p. 137-139, 1991.

DOMINGUES, G. R. **Controle de *Phthorimaea operculella* (Zeller, 1873) (Lepidoptera: Gelechiidae) com *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em batata, em condições de campo e no armazém**. 2006. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

FLANDERS, S.E. Mass production of egg parasites of the genus *Trichogramma*. **Hilgardia**, Berkeley, v. 4, p. 465-501, 1930.

GOMES, S. M. ; PARRA, J. R. P. The parasitization as a tool for factitious hosts selection for *Trichogramma galloi* Zucchi and *T. pretiosum* Riley. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM EGG PARASITOIDS, 1998, Cali. **Proceedings... Cali**, 1998. p.13-23.

GOMEZ-TORRES, M.L. **Controle biológico de *Ecdytoplopha aurantiana* (Lima, 1927) (Lepidoptera: Tortricidae) com *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983**. 2005. 123p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

GRENIER, S.; YANG, H.; GUILLAUD, J.; CHAPELLE, L. Comparative development and biochemical analyses of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) grown in artificial media with hemolymph or devoid of insect components. **Comparative Biochemistry Physiology**, Oxford, v.111, p. 83-90, 1995.

GRENIER, S. Desenvolvimento e produção *in vitro* de *Trichogramma*. In. PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). ***Trichogramma* e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: Fealq, 1997. cap. 9, p. 235-258.

GRENIER, S.; HAN, S.C.; CHAPELLE, L.; LIU, W.H.; GUILLAUD, J. *In vitro* development of *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in long-term, stored, freeze-dried artificial media. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 8, p. 589-596, 1998.

GUERRA, A.A. *In vitro* rearing of *Bracon mellitor* and *Catolaccus grandis* with different insect hemolymph-based diets. **Southwestern Entomologist**, Weslaca, v. 17, p 123-126, 1992.

HAJI, F.N.P., PREZOTTI, L.; CARNEIRO, J.S.; ALENCAR, J.A. *Trichogramma pretiosum* para o controle de pragas no tomateiro industrial. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil, parasitóides e predadores**. Barueri: Manole, 2002. cap. 28, p. 477-491.

HAN, S.C.; CHEN, Q.X.; XU, X.; ZHANG, M.L.; ZHU, D.F.; LIU, W.H. *In vitro* rearing *Anastatus japonicus* Ashmead (Hymenoptera: Eupelmidae) for controlling litchi stink bug, *Tessarotoma papillosa* Drury (Heteroptera: Pentatomidae). **Natural Enemies Insects**, London, v. 10, p. 170-175, 1988.

HASSAN, S. A. Criação da traça do milho, *Sitotroga cerealella*, para a produção massal de *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R. A. **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: Fealq, 1997. cap. 6, p.173-182.

\_\_\_\_\_ Selection of suitable *Trichogramma* strains to control the codling moth *Cydia pomonella* and the summer fruit tortrix moth *Adoxophyes orana*, *Pandemis heparana* (Lep.: Tortricidae). **Entomophaga**, Paris, v. 34, p. 19-27. 1989.

\_\_\_\_\_ The mass rearing and utilization of *Trichogramma* to control lepidopterous pests: achievements and outlook. **Pesticide Science**, London, v. 37, p. 387-391. 1993.

\_\_\_\_\_ Strategies to select *Trichogramma* species for use in biological control. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S.A. (Ed.). **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: CAB International, 1994. chap. 3, p. 55-72.

HESLIN, L.M., KOPITTKER, R.A., MERRITT, D.J. The role of insect cell lines in an artificial diet for the parasitoid wasp, *Trichogramma pretiosum*. **Biological Control**, Oxford, v. 33, p. 186-193, 2005a.

\_\_\_\_\_ Refinement of a cell line based artificial diet for rearing the parasitoid wasp, *Trichogramma pretiosum*. **Biological Control**, Oxford, v. 33, p. 278-285, 2005b.

HOFFMAN, J.D., IGNOFFO, C.M., DICKERSON, W.A. *In vitro* rearing of the endoparasitic wasp, *Trichogramma pretiosum*. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 68, p. 335-336, 1975.

HOHMANN, C.L.; MENEGUIM, A.M. Observações preliminares sobre a ocorrência da broca-do-abacate, *Stenomoma catenifer* Wals. no Estado do Paraná. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 22, p. 417-419, 1993.

HOHMANN, C.L.; LOVATO, L. Parasitism of *Hypocala andremona* (Stoll) (Lepidoptera: Noctuidae) eggs on persimmon trees by Trichogrammatids. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, p. 351-353, 2003.

HU, J.S.; GELMAN, D.B.; BELL, R.A.; LOEB, M.J. *In vitro* rearing of *Edovum plutteri*, an egg parasitoid of the Colorado potato beetle development from egg through the pupal stage. **BioControl**, Dordrecht, v. 43, p. 1-16, 1998.

IRIE, K.; XIE, Z.N.; NETTLES Jr, W.C.; MORRISON, R.K.; CHEN, A.C.; HOLMAN, G.M.; VINSON, S.B. The partial purification of a *Trichogramma pretiosum* pupation factor from hemolymph of *Manduca sexta*. **Insect Biochemistry**, London, v. 17, p. 269-275, 1987.

JARJEES, E., MERRITT, D.J., GORDH, G. Anatomy of the mouthparts and digestive tract during feeding in larvae of the parasitoid wasp *Trichogramma australicum* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **International Journal Insect Morphology**, Oxford, v. 27, p. 103-110, 1998.

LEPPLA, N.C.; ASHLEY, T.R. Quality control in insect mass production: a review and model. **Bulletin of the Entomological Society of America**, Washington, v. 35, p. 33-44, 1989.

LEWIS, W.J.; GROSS Jr., H.R.; PERKINS, W.D.; KNIPLING, E.F.; VOEGELE, J. Production and performance of *Trichogramma* reared on eggs of *Heliothis zea* and other hosts. **Environmental Entomology**, College Park, v. 5, p. 449-452, 1976.

LI, L.Y.; LIU, W.H.; CHEN, C.S.; HAN, S.T.; SHIN, J.C.; DU, H.S.; FENG, S.Y. *In vitro* rearing of *Trichogramma* spp. and *Anastatus* sp. in artificial "eggs" and the methods of mass production. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM O *TRICHOGRAMMA* AND OTHER EGGS Parasites, 1986, Paris. **Proceedings...** Paris, 1986. p.339-352.

LIU, W.; WU, Z.X. Recent results in rearing *Trichogramma in vitro* with artificial media devoid on insect additives. **Acta Entomologica Sinica**, Peking, v. 25, p. 160-163, 1982.

LIU, W.H.; CHEN, Q.X.; HAN, S.C. Lyophilized diet for *in vitro* rearing *Trichogramma dendrolimi*. **Natural Enemies of Insects**, London, v. 15, p. 112-115, 1993.

MACKAUER, M. Genetic problems in the production of biological control agents. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 21, p. 369-385. 1976.

MELO, R.L.; PRATISSOLI, D.; POLANCZYK, R.A.; MELO, D.F.; BARROS, R.; MILANEZ, A.M. Biologia e Exigências Térmicas de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Diaphania hyalinata* L. (Lepidoptera: Pyralidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, n. 36, p. 431-435, 2007.

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**, Curitiba, v.49, p. 151-158, 2005.

MONJE, J.C. Present significance of *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) for the control of sugarcane borers in Americas. Mitt. Deuts. Gesells. **Allgemeine und Angewandte Entomologie**, Stuttgart, v. 27, p. 287-290, 1995.

NAVA, D.E., TAKAHASHI, K.M., PARRA, J.R.P. Linhagens de *Trichogramma* e *Trichogrammatoidea* para controle de *Stenoma catenifer*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, p. 9-16, 2007.

NEWTON, P. J. Increasing the use of trichogrammatids in insect pest management: a case study from the forest of Canada. **Pesticide Science**, London, v.37, p.381-386, 1993.

NORDLUND, D.A.; WU, Z.X.; GREENBERG, S.M. *In vitro* rearing of *Trichogramma minutum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) for ten generations, with quality assessment comparisons of *in vitro* and *in vivo* rearing adults. **Biological Control**, Oxford, v.9, p.201-207, 1997.

NOTARTE, A., MERRITT, D.J. Successful *in vitro* rearing of *Trichogramma australicum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on artificial diets containing cultured insect cells. **Bulletin of the Entomological Research**, Washington, v. 91, p.227-229, 2001.

PARRA, J.R.P. Criação de insetos para estudos com patógenos. In: ALVES, S. B. (Ed.). **Controle Microbiano de Insetos**. São Paulo: Manole, 1986. p. 348-373

\_\_\_\_\_. Situação atual e perspectivas do controle biológico, através de liberações inundativas, no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 271-279, 1992.

\_\_\_\_\_. O Controle Biológico Aplicado e o Manejo Integrado de Pragas. In: Simpósio de Agricultura Ecológica I, IAC, Campinas: Fundação Cargill. 1993. p.116-139,

\_\_\_\_\_. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Trichogramma e o Controle Biológico Aplicado**, Piracicaba: Fealq, 1997. cap. 4, p. 121-150.

\_\_\_\_\_. Criação massal de inimigos naturais. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil, parasitóides e predadores**. Barueri: Manole, 2002. cap. 9, p. 143-161.

PARRA, J. R. P., CÔNSOLI, F.L. *In vitro* rearing of *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 44, p. 407-409, 1992.

PARRA; J.R.P.; ZUCCHI, R.A. *Trichogramma* in Brazil: feasibility of use after twenty years of research. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, p. 271-281, 2004.

PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; SILVEIRA-NETO, S. A importância de *Trichogramma* no controle de pragas na agricultura. **Agrotécnica Ciba-Geigy**, São Paulo, v. 1, p. 12-15, 1987.

PINTO, J.D. Taxonomia de Trichogrammatidae (Hymenoptera) com ênfase nos gêneros que parasitam Lepidoptera. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.) **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: Fealq, 1997. cap. 1, p. 13-40.

PRELL, H. Zur biologie der tachinen *Parasetigena segregata* Rdi und *Panzeria rudis* Fall. **Allgemeine und Angewandte Entomologie**, Stuttgart, v. 3, p. 57-148, 1915.

PREZOTTI, L., PARRA, J.R.P. Controle de qualidade em criações massais de parasitóides e predadores. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil, parasitóides e predadores**. Barueri: Manole, 2002. cap. 17, p. 295-308.

PREZOTTI, L.; PARRA, J.R.P.; VENCOSKY, R.; COELHO, A.S.G.; CRUZ, I. Effect of the size of the founder population on the quality of sexual populations of *Trichogramma pretiosum*, in laboratory. **Biological Control**, Oxford, v. 30, p. 174-180, 2004.

PREZOTTI, L.; PARRA, J.R.P.; VENCOSKY, R.; DIAS, C.T.S.; CRUZ, I.; CHAGAS, M.C.M. Teste de Vôo como Critério de Avaliação da Qualidade de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae): Adaptação de Metodologia. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.31, p.411-417, 2002.

QUERINO, R.B.; ZUCCHI, R.A. O gênero *Trichogramma* (Hymenoptera:Trichogrammatidae) no Brasil. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 8., 2003. São Pedro. **Resumos...** São Pedro: SEB, 2003. p. 131.

RESENDE, D. L. M. C.; CIOCIOLA, A. I. Capacidade de parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes temperaturas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 20, p. 421-424, 1996.

SMITH, S.M. Biological control with *Trichogramma*: advances, successes and potential of their use. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 41, p. 375-406, 1996.

STINNER, R.E. Efficacy of inundative releases. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 22, p. 513-531, 1977.

STRAND, M.R.; VINSON, S.B. In vitro culture of *Trichogramma pretiosum* on an artificial medium. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 39, p. 203-209, 1985.

VAN LENTEREN, J.C. Evaluation, mass production, quality control and release of entomophagous insects. In: FRANZ, J.M. (Ed.). **Biological plant and health protection**. Stuttgart: Fischer, 1986. p. 31-56.

\_\_\_\_\_. Quality control of natural enemies: Hope or illusion? In: WORKSHOP OF THE IOBC GLOBAL WORKING GROUP “quality control of mass reared arthropods”, 1991. Wageningen. **Proceedings...** Wageningen: Editora, 1991, p.1-14.

\_\_\_\_\_. Controle de qualidade de agentes de controle biológico produzidos massalmente: conhecimento, desenvolvimento e diretrizes. In: BUENO, V.H.P. (Ed.) **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Editora:UFLA, 2003a. cap. 2, p. 21-40.

\_\_\_\_\_. Need for Quality Control of Mass-produced Biological Control Agents. In: VAN LENTEREN, J.C. (Ed.). **Quality control and production of biological control agents: Theory and testing procedures**. Cambridge: 2003b. chap. 1, p. 1-18.

VOLKOFF, N.; VINSON, S.B.; WU, Z.X.; NETTLES Jr, W.C. *In vitro* rearing *Trissolcus basalis* [Hym., Scelionidae] an egg parasitoid of *Nezara viridula* [He., Pentatomidae]. **Entomophaga**, Paris, v. 37, p. 141–148, 1992.

VOLKOFF, N., VINSON, S. B. Action of insect material on *in vitro* development of the egg parasitoid *Trissolcus basalis* (Woll.) (Hym.; Scelionidae) larvae. **Redia**, Firenze, v. 74, p. 471–475, 1991.

WAAGE, J.K. “Yes, but does it work in the field?” The challenge of technology transfer in biological control. **Entomophaga**, Paris, v.41, p. 315-332, 1996.

WAAGE, J.K.; CARL, R.P.; MILLS, N.J.; GREATHEAD, D.J. Rearing entomophagous insects, In: SINGH, P., MOORE, R.F. (Ed.). **Handbook of insect rearing**. Amsterdam: Elsevier, 1985. v.1,p.45-66.

WAJNBERG, E.; HASSAN, S.A. **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: British Library, 1994. 286p

WU, Z.X.; QIN, J.D.; LI, T.X.; CHANG, Z.P.; LIU, D.M. Culturing *Trichogramma dendrolimi* *in vitro* with artificial media devoid of insect materials. **Acta Entomologica Sinica**, Peking, v. 25, p. 128–133, 1982.

XIE, Z.N.; NETTLES Jr, W.C.; MORRISON, R.K.; IRIE, K.; VINSON, S.B. Three methods for the *in vitro* culture of *Trichogramma pretiosum* Riley. **Journal Entomological Science**, Tifton, v. 21, p. 133–138, 1986.

XIE, Z.N.; WU, Z.X.; NETTLES JR, W.C.; SALDAÑA, G.; NORDLUND, D.A. *In vitro* culture of *Trichogramma* spp. on artificial diets containing yeast extract and ultracentrifuged chicken egg yolk but devoid of insect components. **Biological Control**, Oxford, v. 8, p. 107-110, 1997.

ZUCCHI, R. A.; MONTEIRO, R.C. O gênero *Trichogramma* na América do Sul, In: In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). ***Trichogramma e o controle biológico aplicado***. Piracicaba: Fealq, 1997. p. 41-46.

### 3 SELEÇÃO DO HOSPEDEIRO ALTERNATIVO PARA *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983, *Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983 E *Trichogrammatoidea annulata* De Santis, 1972 COM BASE EM CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS

#### Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito dos hospedeiros alternativos, *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879), *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865) e *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819) nas características biológicas de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983, *Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983 e *Trichogrammatoidea annulata* De Santis, 1972. Avaliou-se o total de ovos parasitados por fêmea, viabilidade, longevidade de fêmeas e machos, duração do período ovo-adulto e razão sexual dos parasitóides mantidos nos três hospedeiros, nas gerações 1, 10 e 28. O hospedeiro alternativo afetou as características biológicas das espécies estudadas. Para *T. annulata* e *T. bruni*, *C. cephalonica* foi o hospedeiro alternativo mais adequado para sua criação em laboratório. Para *T. atopovirilia*, o hospedeiro alternativo pode ser *C. cephalonica* ou *A. kuehniella*. *S. cerealella* foi o hospedeiro menos adequado para as 3 espécies de parasitóides. As espécies apresentaram capacidade adaptativa aos hospedeiros alternativos preferenciais, ao longo das gerações, com base nos parâmetros avaliados.

Palavras-chave: Hospedeiro alternativo; Tricogramatídeos; Espécies neotropicais

#### Abstract

The objective of this study was to evaluate the effect of factitious hosts, *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879), *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865) and *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819) on biological characteristics of *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983, *Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983 and *Trichogrammatoidea annulata* De Santis, 1972. Total parasitized eggs per female, viability, longevity of males and females, duration from egg-adult and sex ratio of parasitoids maintained on three hosts for 1, 10 and 28 generations was evaluated. Alternative hosts affected biological characteristics of the studied species. For *T. annulata* and *T. bruni*, *C. cephalonica* was the most appropriate factitious host for their laboratory rearing. For *T. atopovirilia*, the factitious host can be either *C. cephalonica* or *A. kuehniella*. *S. cerealella* was the least appropriate among the three parasitoid species. Based on the evaluated parameters, the species showed preferential adaptive capacity to the alternative hosts along the generations.

Key words: Factitious host; Trichogrammatid; Neotropical species.



### 3.1 Introdução

Os parasitóides do gênero *Trichogramma* são importantes agentes de controle biológico de insetos-praga. A sua multiplicação no seu hospedeiro natural é restrita, devido ao grande número de liberações inundativas necessárias para que o controle seja alcançado, e esta multiplicação tornaria oneroso qualquer programa de manejo de pragas (STEIN; PARRA, 1987).

Estes parasitóides têm sido produzidos em hospedeiros alternativos, para reduzir os custos e aumentar a eficiência durante o processo de produção massal. No entanto, até mesmo para um parasitóide polífago, a adequabilidade destes hospedeiros alternativos pode ser variável. Características como volume do ovo hospedeiro, espessura do córion, conteúdo nutricional, idade e forma de postura dos hospedeiros podem afetar a qualidade dos parasitóides, bem como a porcentagem de parasitismo, razão sexual e o número de parasitóides/ovo do hospedeiro (FLANDERS, 1935; CLAUSEN, 1939; LEWIS et al., 1976; HOHMANN et al., 1988; HOFFMANN et al., 1995, 2001; RORIZ, et al., 2006; RUKMOWATI-BROTODJOJO; WALTER, 2006).

*Trichogramma* spp. têm sido criados massalmente em ovos de *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819), *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) e *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865) devido à disponibilidade e facilidade de criação destes hospedeiros. No entanto, existem divergências na escolha do hospedeiro mais adequado. Lewis et al. (1976) demonstraram que *S. cerealella* é nutricionalmente menos adequada para multiplicação de *Trichogramma* em relação às outras espécies, recomendando sua substituição por *A. kuehniella*. Resultados semelhantes têm sido encontrados no Brasil. Nestes estudos, fica evidente que o melhor hospedeiro pode ser variável, dependendo da espécie (PARRA; ZUCCHI, 2004), podendo ser *A. kuehniella* para umas e *C. cephalonica* para outras.

O hospedeiro pode ser nutricionalmente inadequado ou insuficiente para que o parasitóide complete seu desenvolvimento, e neste caso, as condições nutricionais e ambientais nas quais se desenvolveu o hospedeiro, podem afetar a razão sexual, o tempo de desenvolvimento, a fecundidade e a longevidade do parasitóide (VINSON; IWANTSCH, 1980). Desta forma, o desempenho do parasitóide está relacionado à qualidade do hospedeiro (FLANDERS, 1935; BAI et al., 1992; SCHMIDT, 1994), sendo a escolha do hospedeiro de criação de suma importância na

etapa de criação em laboratório, pois a escolha inadequada poderá comprometer o programa de controle biológico.

Neste sentido, este trabalho tem por objetivo avaliar o efeito dos hospedeiros de criação *A. kuehniella*, *C. cephalonica* e *S. cerealella* nas características biológicas de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983, *Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983 e *Trichogrammatoidea annulata* De Santis, 1972, durante diferentes gerações de laboratório (1<sup>a</sup>, 10<sup>a</sup> e 28<sup>a</sup> gerações). Com isto espera-se responder se o desempenho dessas espécies, todas neotropicais, difere quando criadas em diferentes hospedeiros alternativos e se ao longo das gerações de laboratório a espécie pode se adaptar ao novo hospedeiro.

Como *T. atopovirilia* já está sendo produzido comercialmente no Brasil e considerando-se que é crescente o interesse pela utilização das espécies de *Trichogramma* para controle de pragas agrícolas, estes resultados irão facilitar a produção massal das diferentes espécies deste parasitóide.

## 3.2 Material e Métodos

### 3.2.1 Criação dos parasitóides

Como *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983, *Trichogrammatoidea annulata* De Santis, 1972 e *Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983 estavam sendo mantidas anteriormente em ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879), elas foram criadas por três gerações sucessivas em ovos do hospedeiro natural (*Gymnandrosoma aurantianum* Lima, 1927 para *T. atopovirilia* e *Stenoma catenifer* Walsingham, 1912 para *T. bruni* e *T. annulata*), para evitar possível condicionamento pré-imaginal ao hospedeiro de criação. A partir dos descendentes das espécies de tricogramatídeos, provenientes dos ovos do hospedeiro natural, iniciaram-se três criações distintas para cada espécie. Assim, as espécies foram mantidas em ovos de: 1) *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865); 2) *A. kuehniella*; e 3) *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819). Para a manutenção dos parasitóides nos hospedeiros alternativos foi adotada a técnica desenvolvida por Parra (1997).

*S. catenifer* foi criada em sementes de abacate, adotando-se a metodologia de criação proposta por Nava e Parra (2005) e para *G. aurantianum* foi utilizada uma dieta artificial desenvolvida por Garcia e Parra (1999).

### 3.2.2 Hospedeiros alternativos

Os hospedeiros comparados foram: *A. kuehniella*, *C. cephalonica* e *S. cerealella*. A técnica empregada na criação de *A. kuehniella* foi baseada no método desenvolvido por Parra (1997) com uma dieta à base de farinha de trigo integral (97%) e levedura de cerveja (3%). Para a criação de *C. cephalonica* foi utilizada uma dieta à base de germe de trigo (97%) e levedura de cerveja (3%), conforme Bernardi et al. (2000). Para *S. cerealella* foi utilizado trigo em grãos como substrato, baseando-se em Haji et al. (2002).

### 3.2.3 Delineamento experimental

Fêmeas recém-emergidas (12-24 h de idade), provenientes dos ovos de cada hospedeiro alternativo foram individualizadas em tubos de vidro (12 x 75 mm), tampados com filme de PVC e alimentados com uma gotícula de mel puro (PARRA, 1997). Para cada fêmea foram oferecidos cartões com 60 ovos (idade 0-24h) dos respectivos hospedeiros, sendo os cartões substituídos a cada 24h, no mesmo horário, até a morte da fêmea. Os experimentos foram realizados nas gerações 1, 10 e 28, em câmara climatizada regulada a  $25 \pm 1^\circ \text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas.

Avaliaram-se: número de ovos parasitados diariamente, o que permitiu o cálculo da porcentagem acumulada de parasitismo e o número total de ovos parasitados por fêmea, por meio da contagem dos ovos escurecidos em relação ao número total de ovos. A viabilidade dos ovos foi avaliada, observando-se o número de ovos com orifício de emergência e o número de ovos parasitados, estabelecendo-se a razão entre esses valores. Para avaliação da longevidade de machos e fêmeas, os insetos foram monitorados diariamente (duas observações diárias, com intervalo de 12 horas), até a sua morte e as curvas de longevidade das fêmeas foram ajustadas à distribuição de Weibulll (SGRILLO, 1982). Em cada tubo, foi avaliado o período entre o

oferecimento dos ovos aos parasitóides e a emergência dos adultos, o que caracterizou o período ovo-adulto. A razão sexual foi obtida através da fórmula:  $rs = \text{fêmeas}/(\text{fêmeas} + \text{machos})$ .

### 3.2.4 Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 25 repetições (1 fêmea = 1 repetição) por tratamento (cada hospedeiro alternativo = 1 tratamento). Os parâmetros biológicos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ), utilizando-se o programa SAS. Os dados de porcentagem foram transformados em arco seno  $\sqrt{x/100}$  e a longevidade em  $\sqrt{x+1}$ .

## 3.3 Resultados e discussão

### 3.3.1 Características biológicas de *Trichogrammatoidea annulata*, *Trichogramma atopovirilia* e *Trichogramma bruni* em diferentes hospedeiros alternativos ao longo de gerações sucessivas de laboratório

#### 3.3.1.1 Capacidade de parasitismo e longevidade

O ritmo de parasitismo diário decresceu nos três hospedeiros, para as 3 espécies, com o avanço na idade das fêmeas. Nos três hospedeiros estudados, o maior número de ovos parasitados diariamente ocorreu nas primeiras 24 horas (Figuras 1, 2 e 3).

Para *Trichogrammatoidea annulata* De Santis, 1972, as fêmeas criadas em ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) e *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865) parasitaram 80% do total de ovos entre quatro e sete dias, nas gerações 1 e 28 e entre dois e quatro dias na geração 10. Em ovos de *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819) o parasitismo acumulado atingiu 80% no período de quatro a cinco dias em todas as gerações (Figura 1).

Para *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983, observou-se que o parasitismo acumulado atingiu 80% no período de seis a sete dias para as fêmeas provenientes de ovos de *A. kuehniella*, com exceção da geração 10, cuja porcentagem foi atingida no período entre quatro e

cinco dias. Fêmeas provenientes de *C. cephalonica* atingiram 80% do parasitismo no período de cinco a seis dias em todas as gerações, enquanto as fêmeas provenientes de *S. cerealella* alcançaram este valor no período de tempo menor, um a três dias (Figura 2).

Para *Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983, as fêmeas tendem a parasitar 80% do total de ovos no período de cinco a seis dias quando provenientes de *A. kuehniella*, enquanto que para as fêmeas provenientes de *C. cephalonica*, estas necessitaram de um período um pouco menor, entre quatro e cinco dias; para fêmeas expostas a de *S. cerealella*, este valor foi atingido no primeiro ou segundo dias, exceto na geração 10 (Figura 3).

Portanto, em termos gerais, o comportamento das 3 espécies foi semelhante para *A. kuehniella* e *C. cephalonica* e discrepante para *S. cerealella*.

As fêmeas provenientes de *S. cerealella* parasitaram um maior número de ovos em menor espaço de tempo. Este resultado parece estar relacionado à longevidade média das fêmeas, pois estas quando provenientes de *S. cerealella* viveram menos, levando a uma concentração do parasitismo nos primeiros dias. Resultados semelhantes também foram relatados por Oliveira et al. (2005), quando utilizaram *T. exiguum* Pinto & Platner, 1978 parasitando ovos de *C. cephalonica* e *S. cerealella*.

Quanto às diferenças encontradas no ritmo de parasitismo entre os hospedeiros, os dados da literatura são divergentes. Molina et al. (2005) observaram ritmo de parasitismo distinto para espécies de *Trichogramma* em diferentes hospedeiros, enquanto Sá e Parra (1994) e Cònsoli e Parra (1996) obtiveram um ritmo de parasitismo semelhante para linhagens de *T. pretiosum* Riley, 1879, independente do hospedeiro nas quais foram criadas.

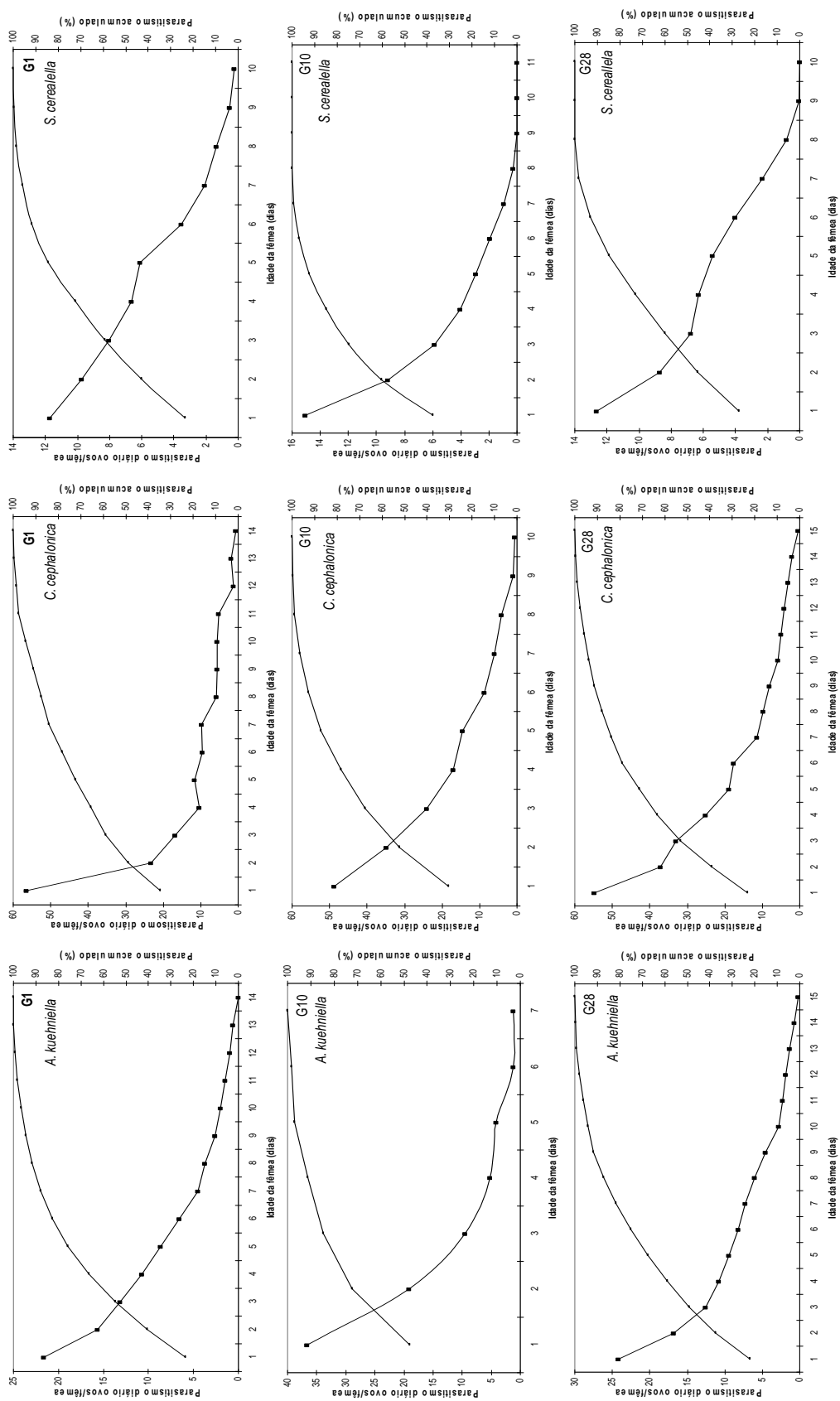


Figura 1 - Parasitismo diário e acumulado de *T. annulata* em 3 hospedeiros alternativos (*A. kuehniella*, *C. cephalonica* e *S. cerealella*) ao longo de gerações sucessivas (G1, G10 e G28) de laboratório ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  UR e fotofase 14 horas)

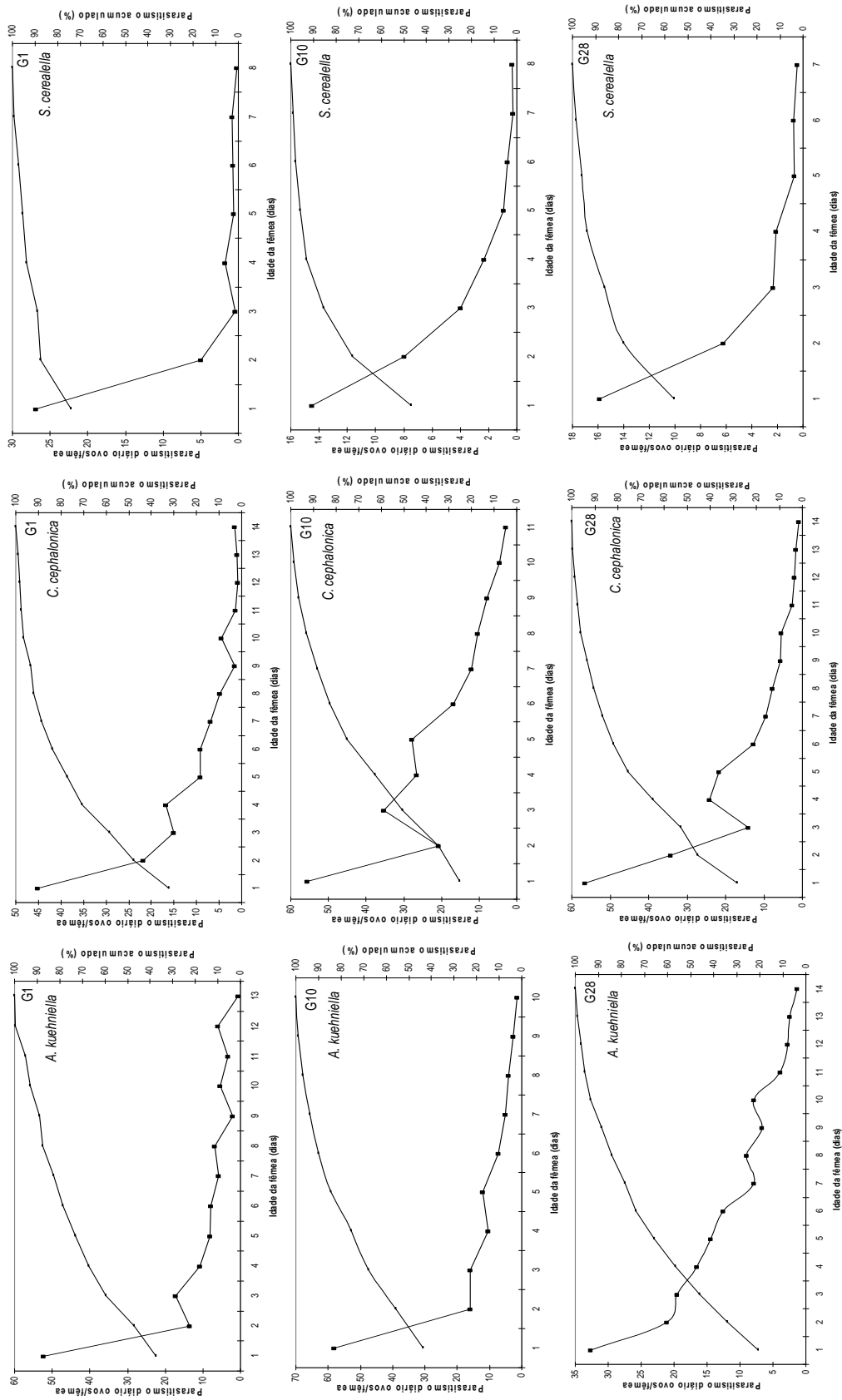


Figura 2 - Parasitismo diário e acumulado de *T. atopovirilia* em 3 hospedeiros alternativos (*A. kuehniella*, *C. cephalonica* e *S. cerealella*) ao longo de gerações sucessivas (G1, G10 e G28) de laboratório ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  UR e fotofase 14 horas)

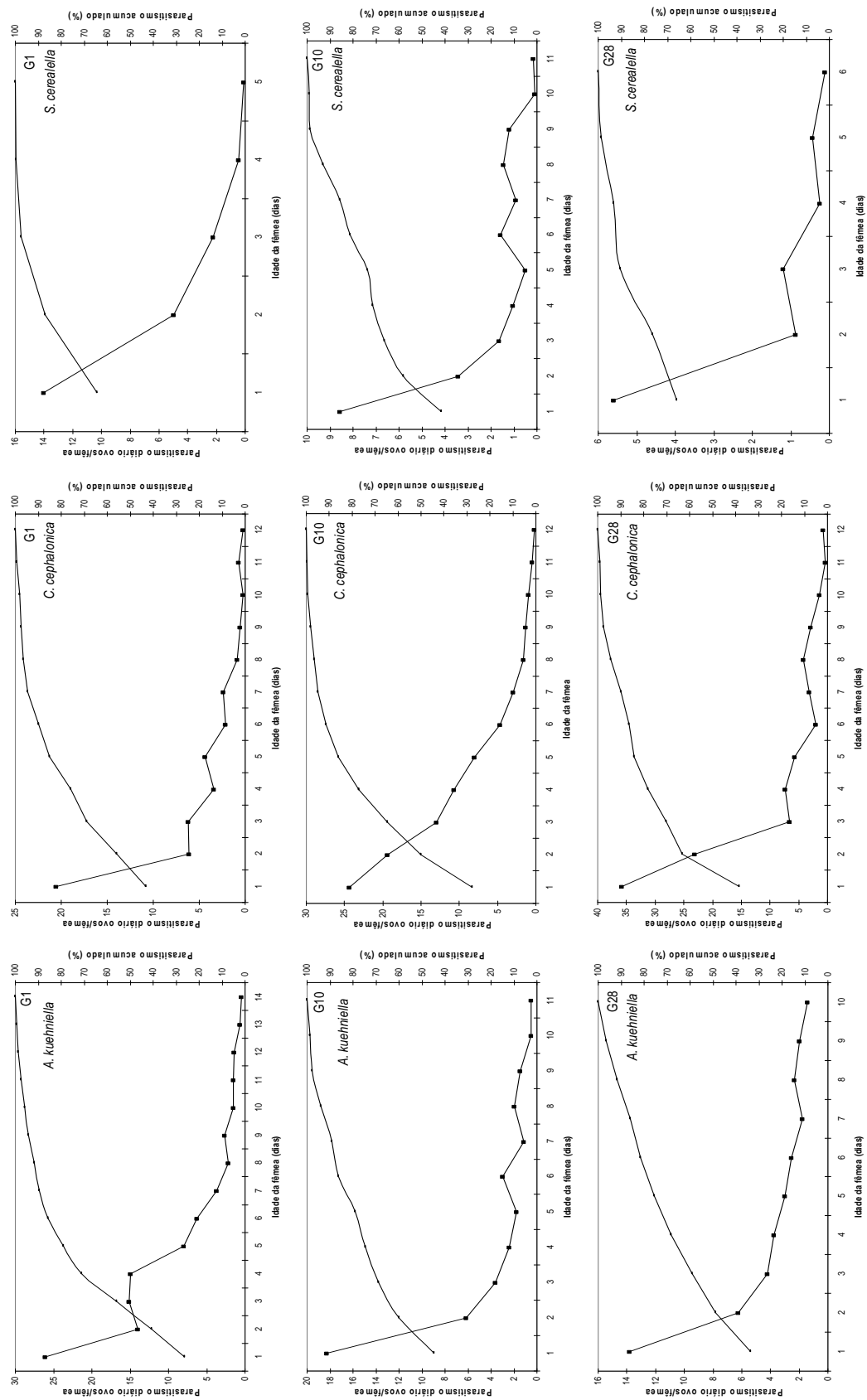


Figura 3 - Parasitismo diário e acumulado de *T. bruni* em 3 hospedeiros alternativos (*A. kuehniella*, *C. cephalonica* e *S. cerealella*) ao longo de gerações sucessivas (G1, G10 e G28) de laboratório ( $25 \pm 1$  °C,  $70 \pm 10$  % UR e fotofase 14 horas)



Não houve interação significativa do fator hospedeiro com o fator geração na capacidade de parasitismo de *T. annulata*. No entanto, a capacidade de parasitismo foi afetada pelo hospedeiro de criação e pela geração; assim, a média do parasitismo foi maior quando esta espécie foi criada em *C. cephalonica* (186,68 ovos/fêmeas), diferindo de *A. kuehniella* (92,80 ovos/fêmeas) e *S. cerealella* (45,80 ovos/fêmeas) (Tabela 1). Na literatura é também relatada a preferência do hospedeiro alternativo *C. cephalonica* pela espécie que ocorre no Brasil *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (GOMES; PARRA, 1998).

O total de ovos parasitados (53,36 ovos) no hospedeiro preferencial (*C. cephalonica*) durante 24 horas, foi superior ao encontrado por Nava et al. (2007) no hospedeiro natural *Stenoma catenifer* Walsingham, pois os autores registraram uma média de 41,26 ovos/fêmea no primeiro dia de parasitismo. O maior tamanho do hospedeiro aliado a fatores nutricionais pode explicar a grande aceitação e parasitismo de *T. annulata* por ovos de *C. cephalonica*, já que Bai et al. (1992); Greenberg et al. (1998) e Liu et al. (1998) demonstraram que espécies de *Trichogramma* provenientes de hospedeiros menores são menos vigorosas e fecundas do que aquelas criadas em hospedeiros maiores. Estes resultados foram coincidentes com aqueles obtidos na presente pesquisa.

Para *T. atopovirilia* a capacidade total de parasitismo foi maior em ovos de *C. cephalonica* (140,04; 220,84; 199,52 ovos/fêmea) e de *A. kuehniella* (139,88; 133,08; 158,80 ovos/fêmea) nas gerações avaliadas, quando comparada a *S. cerealella* (36,40; 31,04; 29,16 ovos/fêmea) (Figura 5). No entanto, na geração 10 observou-se uma diferença significativa entre os hospedeiros *C. cephalonica* e *A. kuehniella*, sendo a capacidade de parasitismo maior no primeiro hospedeiro. Os resultados demonstraram que houve uma interação significativa do fator hospedeiro e geração; desta forma, para esta espécie, o hospedeiro de criação preferencial (*C. cephalonica* e/ou *A. kuehniella*) pode variar de acordo com a geração avaliada. Além disso, a capacidade de parasitismo em *C. cephalonica* apresentou um aumento significativo ao longo das gerações avaliadas, demonstrando um potencial para uma resposta adaptativa à criação em laboratório. Para as demais espécies hospedeiras, a porcentagem de parasitismo permaneceu constante ao longo das gerações.

Para *T. bruni* também observou-se diferença no número total de ovos parasitados para os três hospedeiros alternativos. Os maiores valores observados foram obtidos em ovos de *C. cephalonica* (47,76; 94,60; 93,44 ovos/fêmea) seguido por *A. kuehniella* (98,76; 40,72; 41,16

ovos/fêmea), enquanto os menores valores foram observados em ovos *S. cerealella* (21,76; 20,58; 8,48 ovos/fêmea) (Figura 6). Houve uma interação significativa do fator hospedeiro e geração; na geração 1, observou-se que *A. kuehniella* foi o hospedeiro preferencial diferindo significativamente de *C. cephalonica*, sendo este o hospedeiro preferencial nas demais gerações. Foi observado um aumento significativo na capacidade de parasitismo em *C. cephalonica* ao longo das gerações, evidenciando uma aparente adaptação desta espécie à criação contínua em laboratório neste hospedeiro, enquanto que para *A. kuehniella* e *S. cerealella*, observou-se um decréscimo na capacidade de parasitismo.

Tabela 1 – Número médio ( $\pm$  EPM) de ovos parasitados/fêmea de *T. annulata* em diferentes hospedeiros alternativos ao longo de gerações sucessivas de laboratório ( $25 \pm 1$  °C,  $70 \pm 10$  % UR e fotofase 14 horas)

Geração	Hospedeiro Alternativo			Média
	<i>A. kuehniella</i>	<i>C. cephalonica</i>	<i>S. cerealella</i>	
<b>1<sup>a</sup></b>	92,24 $\pm$ 9,90	163,72 $\pm$ 12,11	49,92 $\pm$ 2,93	<b>101,96 <math>\pm</math> 7,56B</b>
<b>10<sup>a</sup></b>	77,04 $\pm$ 3,80	160,04 $\pm$ 7,15	40,08 $\pm$ 3,42	<b>92,39 <math>\pm</math> 6,50C</b>
<b>28<sup>a</sup></b>	109,12 $\pm$ 9,90	236,33 $\pm$ 16,90	47,40 $\pm$ 3,24	<b>130,95 <math>\pm</math> 11,17A</b>
<b>Média</b>	<b>92,80 <math>\pm</math> 4,96B</b>	<b>186,68 <math>\pm</math> 8,25A</b>	<b>45,80 <math>\pm</math> 1,86C</b>	

Médias seguidas de mesma letra na linha (comparação entre os hospedeiros) e na coluna (comparação entre as gerações), não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ )

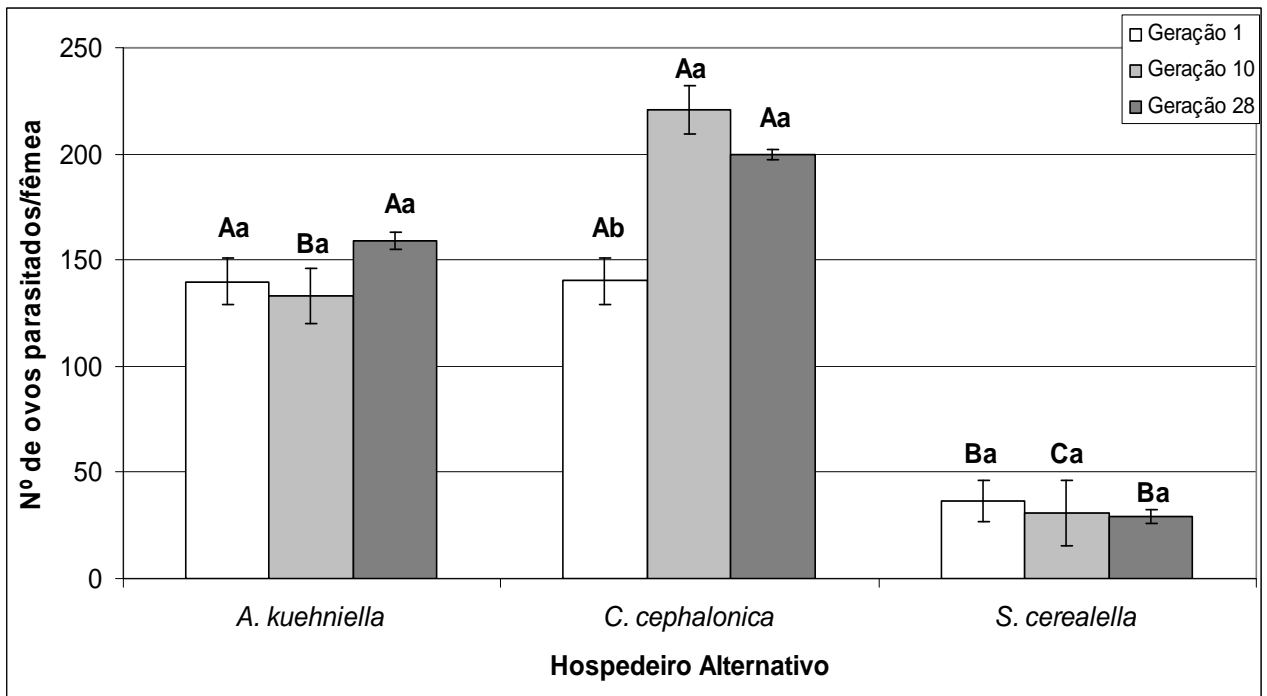


Figura 4 – Número médio ( $\pm$  EPM) de ovos parasitados/fêmea de *T. atopovirilia* em diferentes hospedeiros alternativos ao longo de gerações sucessivas de laboratório ( $25 \pm 1$  °C,  $70 \pm 10$  % UR e fotofase 14 horas). Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ )

Letras maiúsculas: comparação entre os hospedeiros

Letras minúsculas: comparação das gerações dentro de cada hospedeiro

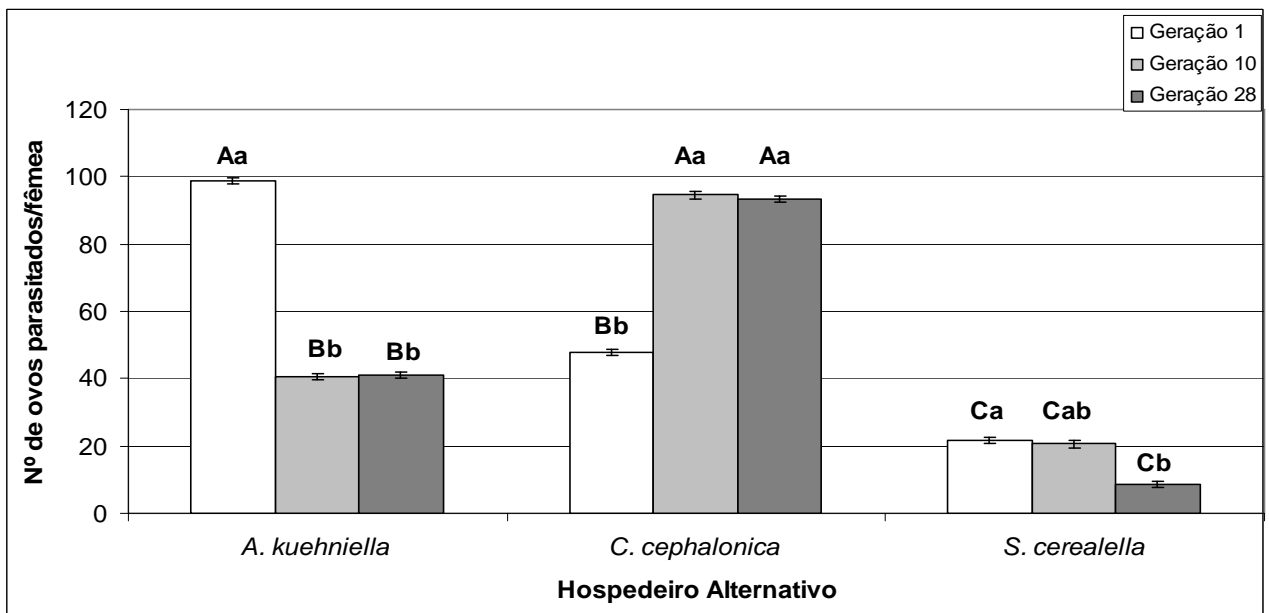


Figura 5 – Número médio ( $\pm$  EPM) de ovos parasitados/fêmea de *T. bruni* em diferentes hospedeiros alternativos ao longo de gerações sucessivas de laboratório ( $25 \pm 1$  °C,  $70 \pm 10$  % UR e fotofase 14 horas). Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ )

Letras maiúsculas: comparação entre os hospedeiros

Letras minúsculas: comparação das gerações dentro de cada hospedeiro

A capacidade total de parasitismo foi afetada pelo hospedeiro de criação. Para todas as espécies, o número médio de ovos parasitados por fêmeas, quando mantidas em *S. cerealella*, não esteve dentro da faixa (70 a 120) encontrado para espécies de *Trichogramma* (PARRA; ZUCCHI, 1986). Os resultados obtidos reforçam o estudo de Bigler et al. (1987) em que a capacidade total de parasitismo é afetada pelo hospedeiro de criação. Além disso, variações na porcentagem de parasitismo podem estar relacionadas às características intrínsecas de cada espécie, ou até mesmo à espessura e à dureza do córion, que podem determinar se o hospedeiro será ou não parasitado (PAK et al., 1990).

A longevidade média das fêmeas de *T. annulata* apresentou diferença significativa apenas na geração 10, quando criados em *S. cerealella* (9,96 dias) e *A. kuehniella* (5,68 dias) sendo que em *C. cephalonica* (8,36 dias) a longevidade foi semelhante àquela nestes dois hospedeiros (Tabela 2). Vale ressaltar que na geração 28, independente dos hospedeiros, as fêmeas tenderam ser mais longevas quando comparadas com as demais gerações; estes resultados podem estar relacionados com a adaptação desta espécie aos hospedeiros de criação, ao longo das gerações. Para os machos, a longevidade média não diferiu entre os hospedeiros. Os machos viveram em média 4,3 dias (Tabela 2). Machos de *T. annulata* quando criados no hospedeiro natural vivem, em média, 10 dias (NAVA et al., 2007). As curvas de sobrevivência obedeceram à distribuição de Weibull para todos os hospedeiros, exceto para *A. kuehniella* e *C. cephalonica* na 10ª geração (Figura 6).

Tabela 2 – Longevidade média ( $\pm$  EPM) (fêmeas e machos), período ovo-adulto e razão sexual de *T. annulata* em diferentes hospedeiros alternativos ao longo de gerações sucessivas de laboratório ( $25 \pm 1$  °C,  $70 \pm 10$  % UR e fotofase 14 horas)

Hospedeiro	Geração	Longevidade (fêmeas)	Longevidade (machos)	Ovo-adulto (dias)	Razão Sexual
<i>A. kuehniella</i>	1 <sup>a</sup>	8,52 $\pm$ 0,70Aab	4,72 $\pm$ 0,21Aa	10,40 $\pm$ 0,07Ca	0,70 $\pm$ 0,04Aa
	10 <sup>a</sup>	5,68 $\pm$ 0,34Bab	4,88 $\pm$ 0,19Aa	10,05 $\pm$ 0,02Cb	0,70 $\pm$ 0,02Aa
	28 <sup>a</sup>	10,52 $\pm$ 0,78Aa	4,00 $\pm$ 0,25Aa	10,35 $\pm$ 0,05Ba	0,50 $\pm$ 0,04Ab
<i>C. cephalonica</i>	1 <sup>a</sup>	8,36 $\pm$ 0,32Aab	4,76 $\pm$ 0,19Aa	10,61 $\pm$ 0,05Ba	0,50 $\pm$ 0,04Aa
	10 <sup>a</sup>	9,92 $\pm$ 0,81Aab	4,68 $\pm$ 0,14Aa	10,57 $\pm$ 0,02Ba	0,50 $\pm$ 0,02Aa
	28 <sup>a</sup>	12,32 $\pm$ 0,68Aa	3,24 $\pm$ 0,14Bb	10,58 $\pm$ 0,07Ba	0,50 $\pm$ 0,03Aa
<i>S. cerealella</i>	1 <sup>a</sup>	8,28 $\pm$ 0,39Aa	4,08 $\pm$ 0,24Aab	11,21 $\pm$ 0,08Aa	0,70 $\pm$ 0,07Aa
	10 <sup>a</sup>	9,96 $\pm$ 0,83Aa	5,00 $\pm$ 0,45Aa	10,81 $\pm$ 0,07Ab	0,70 $\pm$ 0,03Aa
	28 <sup>a</sup>	10,12 $\pm$ 0,70Aa	3,88 $\pm$ 0,19ABb	10,88 $\pm$ 0,03Ab	0,67 $\pm$ 0,04Aa

Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ )

Letras maiúsculas: comparação entre os hospedeiros

Letras minúsculas: comparação das gerações dentro de cada hospedeiro

Para *T. atopovirilia*, a longevidade média de fêmeas e machos provenientes de *C. cephalonica* e *A. kuehniella* foi semelhante, diferindo significativamente da longevidade média das fêmeas provenientes de *S. cerealella*, sendo estas menos longevas (Tabela 3). As curvas de sobrevivência obedeceram à distribuição de Weibull para todos os hospedeiros, exceto para *S. cerealella* nas gerações 1 e 28 (Figura 7).

Tabela 3 – Longevidade média ( $\pm$  EPM) (fêmeas e machos), período ovo-adulto e razão sexual de *T. atopovirilia* em diferentes hospedeiros alternativos ao longo de gerações sucessivas de laboratório ( $25 \pm 1$  °C,  $70 \pm 10$  % UR e fotofase 14 horas)

Hospedeiro	Geração	Longevidade (fêmeas)	Longevidade (machos)	Ovo-adulto (dias)	Razão Sexual
<i>A. kuehniella</i>	1 <sup>a</sup>	10,48 $\pm$ 0,74Aa	3,48 $\pm$ 0,10Ab	10,15 $\pm$ 0,04Bb	0,60 $\pm$ 0,03Ba
	10 <sup>a</sup>	9,84 $\pm$ 0,38Ab	3,92 $\pm$ 0,18Ab	10,51 $\pm$ 0,02Ba	0,62 $\pm$ 0,03Ba
	28 <sup>a</sup>	11,28 $\pm$ 0,60Aa	4,52 $\pm$ 0,25Aa	10,03 $\pm$ 0,04Bb	0,70 $\pm$ 0,02Aa
<i>C. cephalonica</i>	1 <sup>a</sup>	9,64 $\pm$ 0,80Aa	4,04 $\pm$ 0,19Aa	10,23 $\pm$ 0,04Bb	0,7 $\pm$ 0,03ABa
	10 <sup>a</sup>	10,04 $\pm$ 0,49Aa	4,16 $\pm$ 0,18Aa	10,79 $\pm$ 0,02Aa	0,60 $\pm$ 0,02Ba
	28 <sup>a</sup>	10,36 $\pm$ 0,76Aa	3,96 $\pm$ 0,26Aa	10,69 $\pm$ 0,06Aa	0,60 $\pm$ 0,03Aa
<i>S. cerealella</i>	1 <sup>a</sup>	4,92 $\pm$ 0,47Ba	2,64 $\pm$ 0,29Bb	10,53 $\pm$ 0,05Aa	0,80 $\pm$ 0,03Aa
	10 <sup>a</sup>	6,20 $\pm$ 0,40Ba	3,28 $\pm$ 0,15Ba	10,71 $\pm$ 0,06Aa	0,80 $\pm$ 0,01Aa
	28 <sup>a</sup>	5,24 $\pm$ 0,35Ba	2,84 $\pm$ 0,15Ba	10,15 $\pm$ 0,04Aa	0,60 $\pm$ 0,05Ab

Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ )

Letras maiúsculas: comparação entre os hospedeiros

Letras minúsculas: comparação das gerações dentro de cada hospedeiro

A longevidade média de fêmeas e machos de *T. bruni* também foi variável dependendo do hospedeiro no qual foram criados (Tabela 4). Parasitóides provenientes de *C. cephalonica* e *A. kuehniella* foram mais longevos quando comparados com parasitóides provenientes de *S. cerealella*. As curvas de sobrevivência obedeceram à distribuição de Weibull para todos os hospedeiros, exceto para *S. cerealella* nas gerações 1 e 28 (Figura 8). Esta possibilidade de previsão de sobrevivência baseada neste modelo é de grande importância em laboratórios de criação massal de *Trichogramma*, já que permite a previsão da longevidade do parasitóide e conseqüentemente é possível fazer a previsão de produção numa criação massal.

A longevidade é uma característica de grande importância para programas de controle biológico, pois parasitóides criados em *C. cephalonica* e *A. kuehniella*, sendo mais longevos, provavelmente teriam maior eficiência em campo, sendo capazes de parasitar por mais tempo em relação àqueles criados em *S. cerealella*. Entretanto, para tal afirmativa deve-se conhecer a capacidade total de parasitismo, pois se houver uma concentração do parasitismo nos primeiros dias, a longevidade pode ser uma característica não tão importante.

Tabela 4 – Longevidade média ( $\pm$  EPM) (fêmeas e machos), período ovo-adulto e razão sexual de *T. bruni* em diferentes hospedeiros alternativos ao longo de gerações sucessivas de laboratório ( $25 \pm 1$  °C, 70  $\pm$  10 % UR e fotofase 14 horas)

Hospedeiro	Geração	Longevidade (fêmeas)	Longevidade (machos)	Ovo-adulto (dias)	Razão Sexual
<i>A. kuehniella</i>	1 <sup>a</sup>	10,40 $\pm$ 0,81Aa	3,68 $\pm$ 0,27Aa	10,46 $\pm$ 0,10Ba	0,50 $\pm$ 0,04Ba
	10 <sup>a</sup>	7,60 $\pm$ 0,63Aa	2,92 $\pm$ 0,27Ab	10,63 $\pm$ 0,06Ba	0,70 $\pm$ 0,04Aa
	28 <sup>a</sup>	8,48 $\pm$ 0,89Aa	2,90 $\pm$ 0,14Ab	10,66 $\pm$ 0,04Ba	0,62 $\pm$ 0,04ABa
<i>C. cephalonica</i>	1 <sup>a</sup>	3,36 $\pm$ 0,71Bb	3,90 $\pm$ 0,18Aa	10,73 $\pm$ 0,07Ba	0,60 $\pm$ 0,03Bab
	10 <sup>a</sup>	9,30 $\pm$ 0,96Aa	2,80 $\pm$ 0,24Ab	10,56 $\pm$ 0,10Ba	0,65 $\pm$ 0,04Aab
	28 <sup>a</sup>	10,68 $\pm$ 0,72Aa	3,20 $\pm$ 0,17Aab	10,52 $\pm$ 0,06Ba	0,50 $\pm$ 0,05ABa
<i>S. cerealella</i>	1 <sup>a</sup>	4,88 $\pm$ 0,35Ba	2,72 $\pm$ 0,12Ba	11,79 $\pm$ 0,05Aa	0,70 $\pm$ 0,05Aa
	10 <sup>a</sup>	4,23 $\pm$ 0,19Ba	1,68 $\pm$ 0,26Bb	11,73 $\pm$ 0,09Aa	0,70 $\pm$ 0,03Aa
	28 <sup>a</sup>	4,98 $\pm$ 0,39Ba	2,88 $\pm$ 0,27Aa	11,87 $\pm$ 0,04Aa	0,76 $\pm$ 0,05Aa

Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ )

Letras maiúsculas: comparação entre os hospedeiros

Letras minúsculas: comparação das gerações dentro de cada hospedeiro

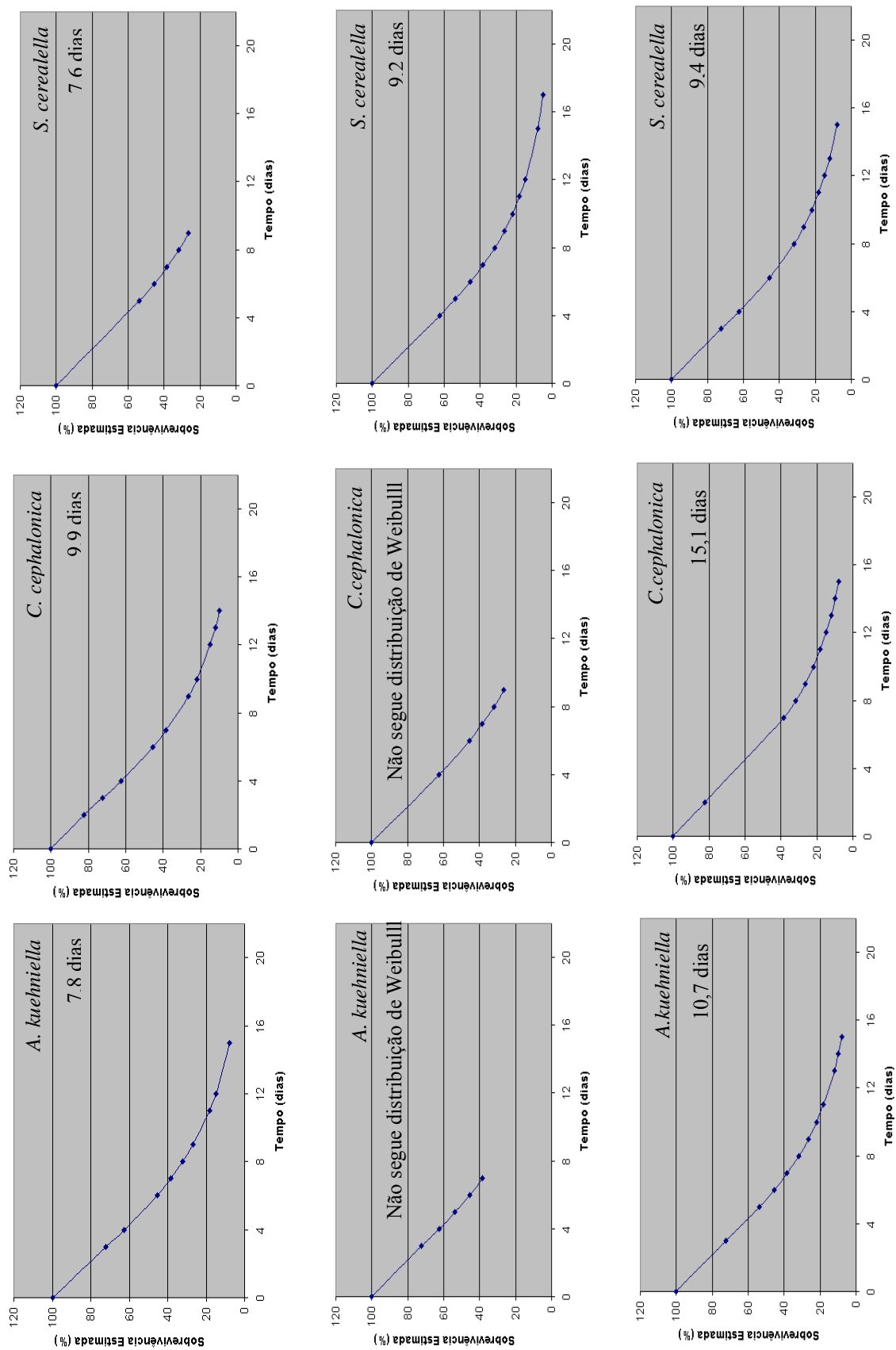


Figura 6 – Curvas de sobrevivência de fêmeas de *T. annulata* em 3 hospedeiros alternativos (*A. kuehniella*, *C. cephalonica* e *S. cerealella*) ao longo de gerações sucessivas (G1, G10 e G28) de laboratório (25 ± 1 °C, 70 ± 10 % UR e fotofase 14 horas)



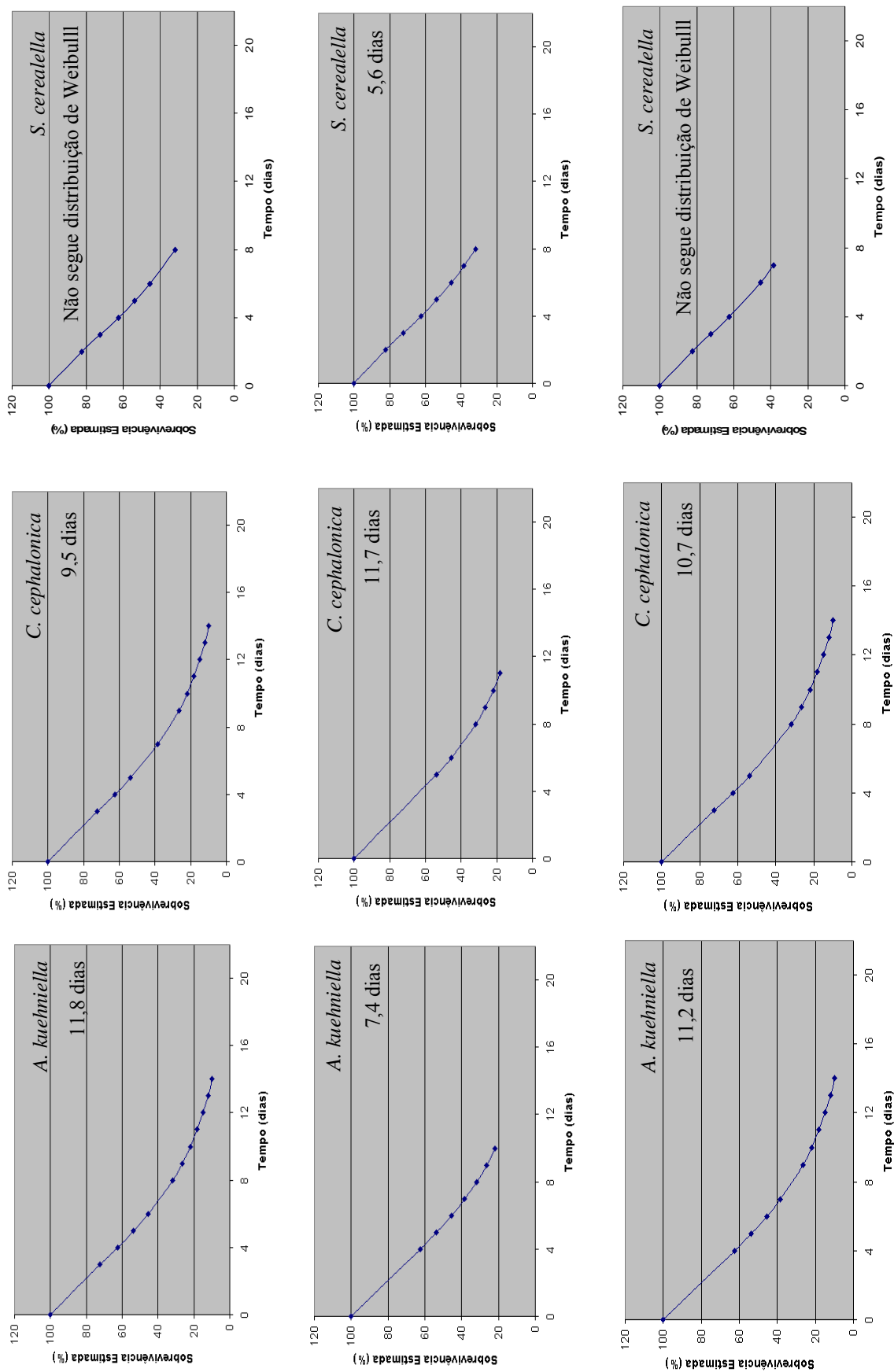


Figura 7 – Curvas de sobrevivência de fêmeas de *T. atropvirilia* em 3 hospedeiros alternativos (*A. kuehniella*, *C. cephalonica* e *S. cerealella*) ao longo de gerações sucessivas (G1, G10 e G28) de laboratório ( $25 \pm 1$  °C, 70  $\pm$  10 % UR e fotofase 14 horas)

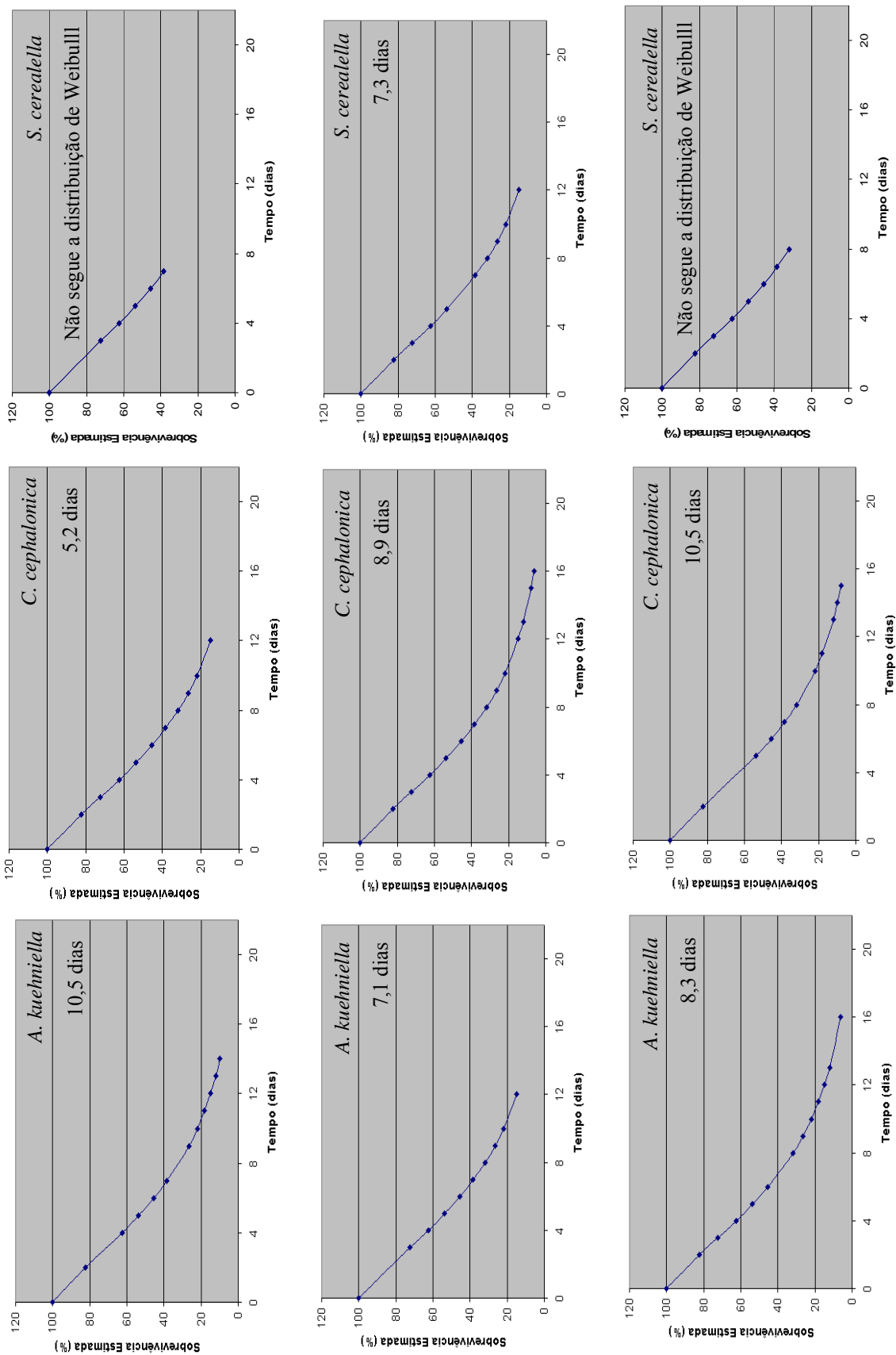


Figura 8 – Curvas de sobrevivência de fêmeas de *T. bruni* em 3 hospedeiros alternativos (*A. kuehniella*, *C. cephalonica* e *S. cerealella*) ao longo de gerações sucessivas (G1, G10 e G28) de laboratório ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  UR e fotofase 14 horas)

### 3.3.1.2 Duração do período ovo-adulto

A duração do período de desenvolvimento (ovo-adulto) foi afetada pelo hospedeiro de criação, ao longo das gerações avaliadas, para todas as espécies.

Para *T. annulata*, o hospedeiro *A. kuehniella* proporcionou uma menor duração do período ovo-adulto, seguido por *C. cephalonica*, enquanto *S. cerealella* proporcionou uma maior duração deste período. (Tabela 2). Os valores obtidos na presente pesquisa para *A. kuehniella* foram mais próximos ao encontrado por Nava et al. (2007) para *T. annulata*, criado no hospedeiro natural, ou seja, 10,09 dias.

Para *T. atopovirilia*, observou-se um alongamento do período ovo-adulto nos hospedeiros *C. cephalonica* e *S. cerealella*, enquanto que para *A. kuehniella* o período de desenvolvimento foi menor (Tabela 3).

Para *T. bruni*, a duração do período ovo-adulto foi maior em ovos de *S. cerealella* e menor em *C. cephalonica* e *A. kuehniella* (Tabela 4).

De modo geral, *S. cerealella* proporcionou uma maior duração do período ovo-adulto. Estas diferenças encontradas podem estar relacionadas com o tamanho e a qualidade nutricional do ovo hospedeiro, já que este pode conter maior ou menor quantidade de nutrientes, pois parasitóides criados sob condições inferiores à condição nutricional ideal, têm o desenvolvimento retardado (GRENIER, 1994).

### 3.3.1.3 Razão sexual

Os valores de razão sexual de *T. annulata* nos diferentes hospedeiros não diferiram (Tabela 2) e foram acima de 0,50 em todos os hospedeiros. Valores semelhantes foram encontrados por Nava et al. (2007) para esta mesma espécie no hospedeiro natural.

Para *T. atopovirilia* e *T. bruni* embora tenham sido observadas diferenças significativas entre os hospedeiros, todos os valores foram superiores a 0,50 (Tabelas 3 e 4).

Todas as espécies, em todos os hospedeiros, atingiram o índice satisfatório exigido no controle de qualidade de *Trichogramma* em criações massais, que é de uma razão sexual igual ou superior a 0,5 (NAVARRO, 1998). Uma alta razão sexual pode ser benéfica em programas de

controle biológico, visto que os machos não contribuem para redução da praga através do parasitismo (COMINS; WELLINGS, 1985).

### 3.3.1.4 Viabilidade (%)

Ocorreram diferenças significativas entre os hospedeiros alternativos na porcentagem de emergência de *T. annulata*; embora tenha havido diferenças, os valores foram superiores a 90% em todos os hospedeiros (Figura 9). Este percentual de emergência está próximo ao relatado para *T. annulata* em ovos do hospedeiro natural, *S. catenifer* (NAVA et al., 2007).

Para *T. atopovirilia* não foram observadas diferenças significativas entre os hospedeiros e os valores também foram superiores a 90% em todos os hospedeiros (Figura 10).

Para *T. bruni*, embora tenha sido detectada diferença significativa entre os hospedeiros, o percentual de emergência foi alto, superior a 85%, em todos os hospedeiros (Figura 11).

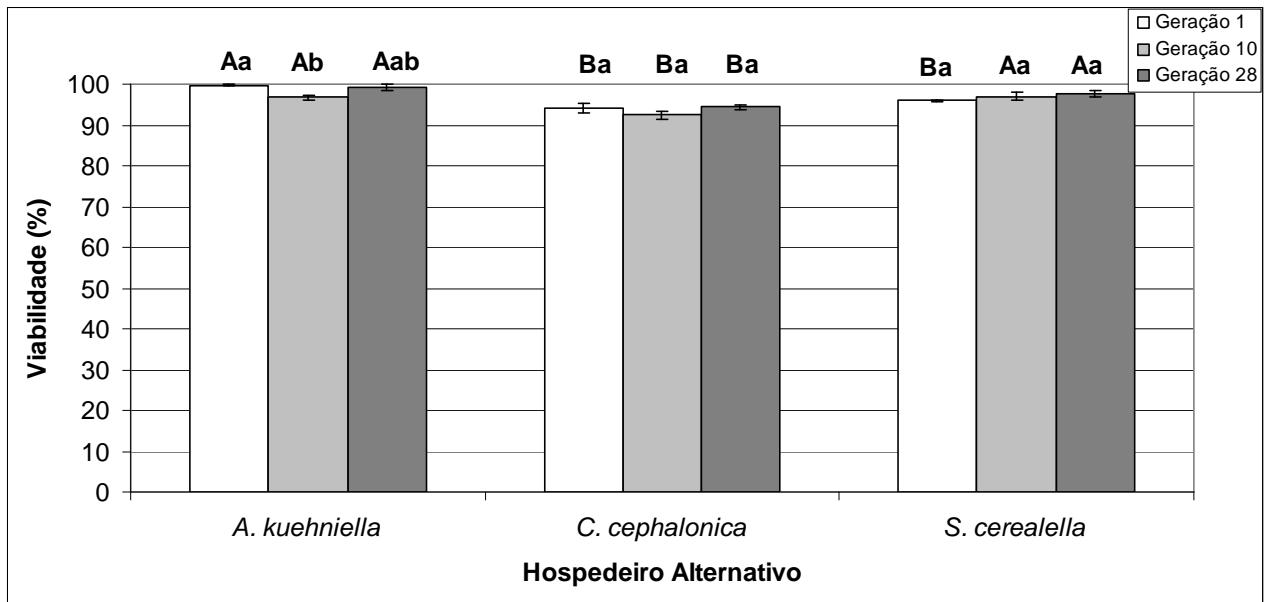


Figura 9 – Viabilidade média ( $\pm$  EPM) de *T. annulata* em diferentes hospedeiros alternativos ao longo de gerações sucessivas de laboratório ( $25 \pm 1$  °C,  $70 \pm 10$  % UR e fotofase 14 horas). Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ )

Letras maiúsculas: comparação entre os hospedeiros

Letras minúsculas: comparação das gerações dentro de cada hospedeiro

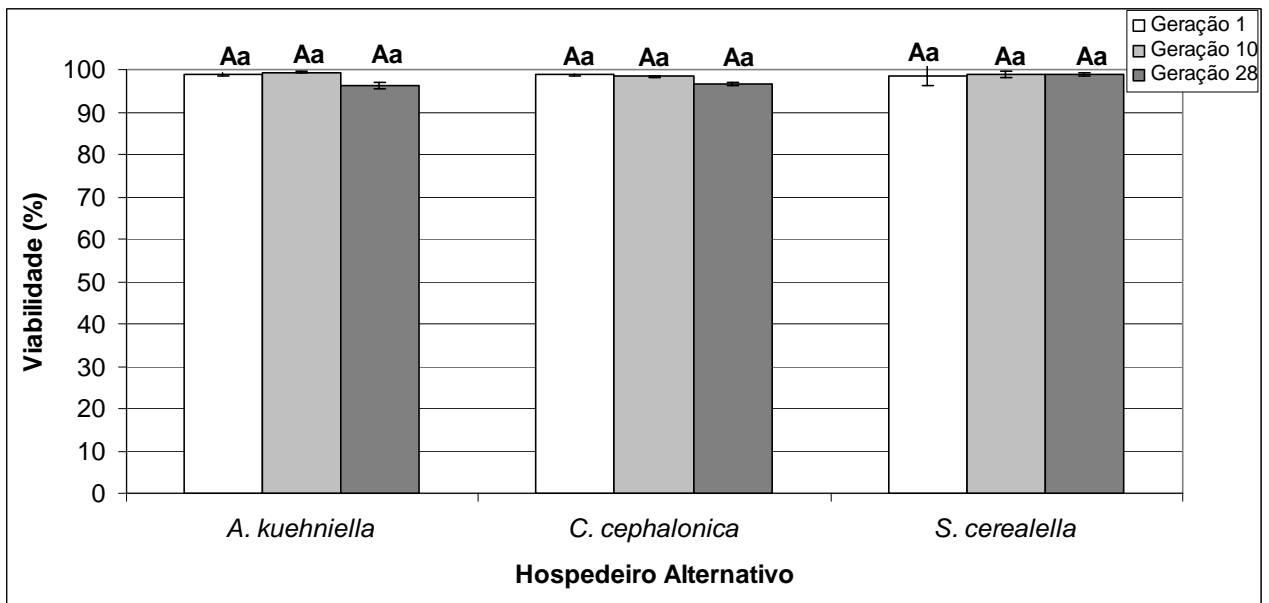


Figura 10 – Viabilidade média ( $\pm$  EPM) de *T. atovirilia* em diferentes hospedeiros alternativos ao longo de gerações sucessivas de laboratório ( $25 \pm 1$  °C,  $70 \pm 10$  % UR e fotofase 14 horas). Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ )  
 Letras maiúsculas: comparação entre os hospedeiros  
 Letras minúsculas: comparação das gerações dentro de cada hospedeiro

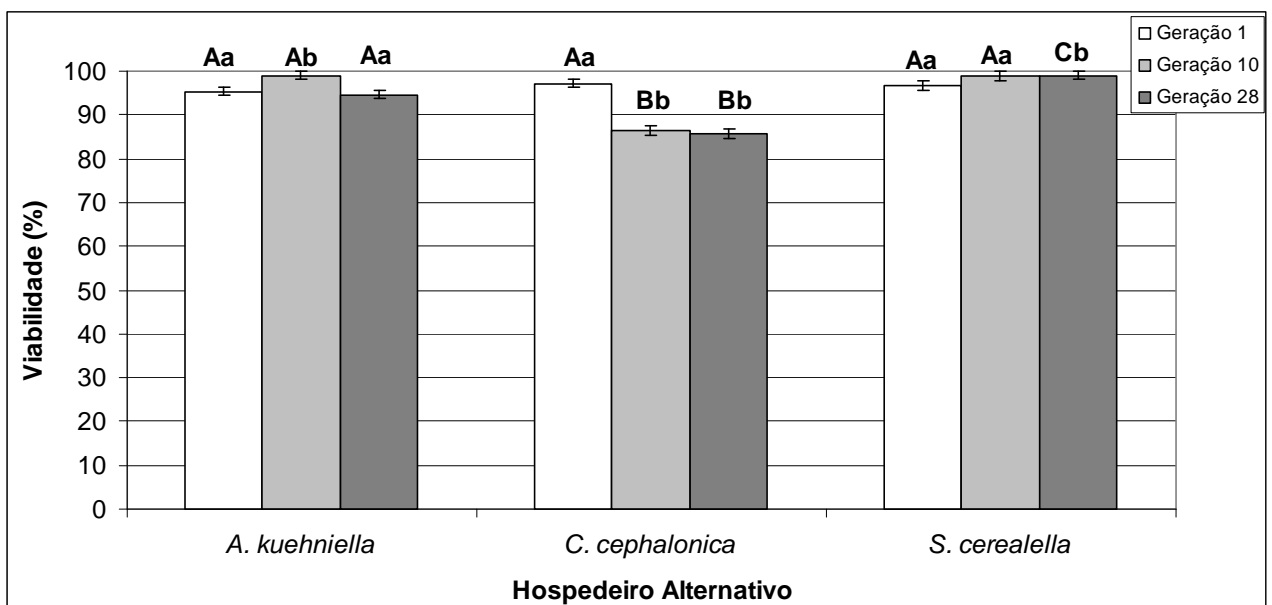


Figura 11 – Viabilidade média ( $\pm$  EPM) de *T. bruni* em diferentes hospedeiros alternativos ao longo de gerações sucessivas de laboratório ( $25 \pm 1$  °C,  $70 \pm 10$  % UR e fotofase 14 horas). Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ )  
 Letras maiúsculas: comparação entre os hospedeiros  
 Letras minúsculas: comparação das gerações dentro de cada hospedeiro

Altas porcentagens de emergência no hospedeiro de criação em laboratório facilitaria liberações massais do parasitóide no campo, principalmente quando associadas a um bom parasitismo. Talvez a maior porcentagem de emergência obtida no hospedeiro menos aceito para parasitismo (*S. cerealella*) possa estar relacionada a algum processo de seleção, no qual estaria envolvido um maior vigor dos indivíduos que sobreviveram à fase larval dentro do ovo hospedeiro, sendo então mais aptos a atingir o estágio adulto. Além disso, a estrutura e dureza do córion do ovo hospedeiro estão associadas tanto ao parasitismo como à emergência do parasitóide. Assim, os resultados obtidos discordam da afirmativa de Salt (1940) que associou a maior dificuldade de parasitismo de ovos de *S. cerealella* por *Trichogramma evanescens* (Westwood) à maior resistência do córion deste hospedeiro, o que poderia prejudicar a emergência do parasitóide. Cônsoli e Parra (1997) também observaram maior dificuldade de *T. galloi* para perfurar ovos de *S. cerealella*, em relação a ovos de outros três hospedeiros, atribuindo esta diferença à maior resistência do córion de *S. cerealella*.

De modo geral, a espécie *T. atopovirilia* é mais fácil de ser criada em laboratório, tendo em vista sua menor especificidade em relação à adaptação ao hospedeiro de criação, uma vez que se adaptou tanto a *A. kuehniella* como a *C. cephalonica*.

As espécies *T. annulata* e *T. bruni* são mais específicas, exigindo maior atenção na escolha do hospedeiro para sua manutenção em laboratório, sendo que *C. cephalonica* mostrou-se mais adequada à multiplicação contínua dessas espécies. Esta grande preferência por ovos de *C. cephalonica* pode estar relacionada ao maior tamanho destes ovos em relação aos outros dois hospedeiros, estando mais próximo do tamanho de ovos do hospedeiro natural *S. catenifer*, que são maiores. Assim, os valores encontrados para os parâmetros biológicos avaliados evidenciaram a boa adequação dos ovos de *C. cephalonica* ao desenvolvimento destas espécies de tricogramatídeos, o que indica a possibilidade de sua multiplicação em laboratório. *C. cephalonica* também foi o hospedeiro alternativo preferencial da espécie neotropical *T. galloi* (GOMES; PARRA 1998).

O hospedeiro menos parasitado pelas espécies de tricogramatídeos estudadas, *S. cerealella*, registrou outros parâmetros desfavoráveis como maior duração do período ovo-adulto e menor longevidade.

Nos locais em que se utilizam *Trichogramma* como agentes de controle biológico, é muito comum optar-se por um hospedeiro alternativo, seja pela facilidade de criação ou pela

disponibilidade do inseto. Entretanto, o presente trabalho demonstra que é necessário, para cada espécie, determinar qual é o hospedeiro alternativo mais adequado, pois, muitas vezes, o insucesso de um programa de Controle Biológico estar relacionado à escolha inadequada do hospedeiro de criação.

### 3.4 Conclusões

- 1) O hospedeiro alternativo afeta as características biológicas das espécies estudadas;
- 2) *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865) é o hospedeiro alternativo mais adequado para *Trichogrammatoidea annulata* De Santis, 1972 e *Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983;
- 3) *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 pode ser criado em *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) ou *C. cephalonica* ao longo das gerações;
- 4) *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819) é o hospedeiro menos adequado para as 3 espécies de parasitóides;
- 5) As espécies *T. annulata*, *T. atopovirilia* e *T. bruni* apresentam capacidade adaptativa aos hospedeiros alternativos preferenciais, ao longo das gerações, com base nos parâmetros avaliados.

### Referências

- BAI, B.; LUCK, R.F.; FORSTER, L.; STEPHENS, B.; JANSSEN, J.A.M. The effect of host size on quality attributes of the egg parasitoid, *Trichogramma pretiosum*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 64, p. 37-48, 1992.
- BERNARDI, E.B.; HADDAD M.L; PARRA J.R. Comparison of artificial diets for rearing *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865) (Lep., Pyralidae) for *Trichogramma* mass production. **Revista Brasileira de Biologia**, São Carlos, v. 60, n. 1, p. 45-52, 2000.
- BIGLER, F.; MEYER, A.; BOSSHART, S. Quality assessment in *Trichogramma maidis* Pintureau et Voegelé reared from eggs of the factitious hosts *Ephestia kuehniella* Zell. and *Sitotroga cerealella* (Olivier). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 104, p. 340-353, 1987.

CLAUSEN, C.P. The effect of host size upon the sex-ratio of hymenopterous parasites and its relation to methods of rearing and colonization. **Journal of the New York Entomological Society**, New York, v.47, p.1-9, 1939.

COMINS; H.N.; WELLINGS, P.W. Density-related parasitoid sex ratio: Influence on host-parasitoid dynamics. **Journal Animal Ecology**, Oxford, v. 54, p. 583-594, 1985.

CÔNSOLI, F.L.; PARRA, J.R.P. Biology of *Trichogramma galloi* and *T. pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared in vitro and in vivo. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 89, p. 828-834, 1996.

\_\_\_\_\_. Parasitism behavior of *Trichogramma galloi* on natural and factitious hosts with an ultrastructural study of the host eggs. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON PESTS IN AGRICULTURE, 4., 1997. Montpellier. Montpellier: le Corum, 1997. p. 717-724.

FLANDERS, S.E. Host influence on the prolificacy and size of *Trichogramma*. **The Pan-Pacific Entomology**, San Francisco, v. 11, p. 175-177, 1935.

GARCIA, M. S.; PARRA, J. R. P. Comparação de dietas artificiais, com fontes protéicas variáveis, para criação de *Ecdytolopha aurantiana* (Lima, 1927) (Lepidoptera: Tortricidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 28, p. 219–232, 1999.

GOMES, S. M. ; PARRA, J. R. P. The parasitization as a tool for factitious hosts selection for *Trichogramma galloi* Zucchi and *T. pretiosum* Riley. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM EGG PARASITIDS, 1998, Cali. **Proceedings... Cali**, 1998. p.13-23.

GREENBERG, S.M.; MORRISON, R.K.; NORDLUND, O.A.; KING, E.G. A review of the scientific literature and methods for production of factitious hosts for use in mass rearing of *Trichogramma* (Hym.: Trichogrammatidae) in the former Soviet Union, the United States, Western Europe and China. **Journal Entomological Science**, Tifton, v.33, p. 15-32, 1998.

GRENIER, S. Rearing of *Trichogramma* and other egg parasitoids on artificial diets. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S.A. (Ed.). **Biological control with egg parasitoid**. Wallingford: CAB International, 1994. chap. 4, p. 73-92.

HAJI, F.N.P., PREZOTTI, L.; CARNEIRO, J.S.; ALENCAR, J.A. *Trichogramma pretiosum* para o controle de pragas no tomateiro industrial. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil, parasitóides e predadores**. Barueri: Manole, 2002. cap. 28, p. 477-491.

HOFFMANN, M.P; WALKER. D.L; SHELTON, A.M. Biology of *Trichogramma ostrinia* (Hym.: Trichogrammatidae) reared on *Ostrinia nubilalis* (Lep.: Pyralidae) and survey for additional hosts. **Entomophaga**, Paris, v. 40, p. 387-402, 1995.



HOFFMANN, M., ODE, P.R.; WALKER, D.L.; GARDNER, J.; VAN NOUHUYS, S.; SHELTON, A.M. Performance of *Trichogramma ostriniae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared on factitious hosts, including the target host, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Biological Control**, Oxford, v. 21, p. 1-10, 2001.

HOHMANN, C.L.; LUCK, R.F.; OATMAN, E.R. A comparison of longevity and fecundity of adult *Trichogramma platneri* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared from eggs of the cabbage looper and the angoumois grain moth, with and without access to honey. **Journal of Economic Entomology**, Maryland, v. 81, p. 1307-1312, 1988.

LEWIS, W.J.; GROSS Jr., H.R.; PERKINS, W.D.; KNIPLING, E.F.; VOEGELE, J. Production and performance of *Trichogramma* reared on eggs of *Heliothis zea* and other hosts. **Environmental Entomology**, College Park, v. 5, p. 449-452, 1976.

LIU, S.; ZHANG, G.; ZHANG, F. Factors influencing parasitism of *Trichogramma dendrolimi* on eggs of the Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis*. **Biocontrol**, Dordrecht, v. 43, p. 273-287, 1998.

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**, Curitiba, v. 49, p. 151-158, 2005.

NAVA, D.E., PARRA, J.R.P. Biologia de *Stenoma catenifer* Walsingham (Lepidoptera: Elachistidae) em dietas natural e artificial e estabelecimento de um sistema de criação. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, p. 751-759, 2005.

NAVA, D.E.; TAKAHASHI, K.M.; PARRA, J.R.P. Linhagens de *Trichogramma* e *Trichogrammatoidea* para controle de *Stenoma catenifer*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, p. 9-16, 2007.

NAVARRO, M.A. *Trichogramma* spp. **Procucción, Uso y Manejo en Colombia**. Guadalajara de Buga: Impretec, 1998. 176 p.

OLIVEIRA, H. N.; COLOMBI, C. A.; PRATISSOLI, D. ; PEDRUZZI, E.; DALVI, L. P. Capacidade de parasitismo de *Trichogramma exiguum* criado em dois hospedeiros alternativos por diversas gerações. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, p. 284-288, 2005.

PAK, G.A.; KASKENS, J.W.M.; de JONG, E.J. Behavioural variation among strains of *Trichogramma* spp.: host species selection. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 56, p. 91-102, 1990.

PARRA, J.R.P. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Trichogramma e o Controle biológico aplicado**. Piracicaba: Fealq, 1997, cap. 4, p. 21-150.

- PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, A.R. Uso de *Trichogramma* no controle de pragas. In: NAKANO, O.; SILVEIRA-NETO, S.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, A.R. (Ed.). **Atualização sobre métodos de controle de pragas**. Piracicaba: Fealq, 1986. p. 54-75.
- PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, A.R. *Trichogramma* in Brazil: Feasibility of use after twenty years of research. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, p. 271-281, 2004.
- RORIZ, V., OLIVEIRA, L., GARCIA, P. Host suitability and preference studies of *Trichogramma cordubensis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Biological Control**, Oxford, v. 36, p. 331-336, 2006.
- RUKMOWATI-BROTODJOJO, RR.; WALTER, R.R. Oviposition and reproductive performance of a generalist parasitoid (*Trichogramma pretiosum*) exposed to host species that differ in their physical characteristics. **Biological Control**, Oxford, v. 39, p. 300-312, 2006.
- SA, L.A.N.; PARRA, J.R.P. Biology and parasitism of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym., Trichogrammatidae) on *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lep., Pyralidae) and *Heliothis zea* (Boddie) (Lep., Noctuidae) egg. **Journal of Applied Entomology**, Hamburg, v. 118, p. 38-43, 1994.
- SALT, G. Experimental studies in insect parasitism. VII – The effects of different hosts on the parasite *Trichogramma evanescens* Westw. (Hym.: Chalcidoidea). **Proceedings of the Society of London**, London, v. 15, p.81-95, 1940.
- SCHMIDT, JM. Host recognition and acceptance by *Trichogramma*. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S.A. (Ed.). **Biological control with egg parasitoid**. Wallingford: CAB International, 1994. cap. 9, p. 165-199.
- SGRILLO, R.B. A distribuição de Weibulll como modelo de sobrevivência de insetos. **Ecosistema**, Espírito Santo do Pinhal, v. 7, p. 9-13, 1982.
- SMITH, S.M. Biological control with *Trichogramma*: advances, successes, and potential of their use. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 41, p. 375-406. 1996.
- STEIN, C. P.; PARRA, J. R. P. Aspectos biológicos de *Trichogramma* spp. em diferentes hospedeiros. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 16, p. 163-171, 1987.
- VINSON, S.B; IWANTSCH, G.F. Host suitability for insect parasitoids. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 25, p. 397-419, 1980.

#### 4 TABELA DE VIDA DE FERTILIDADE DE TRÊS ESPÉCIES NEOTROPICAIS DE TRICHOGRAMMATIDAE EM OVOS DE HOSPEDEIROS ALTERNATIVOS COMO CRITÉRIO DE SELEÇÃO HOSPEDEIRA

##### Resumo

O objetivo deste trabalho foi selecionar o hospedeiro alternativo que permita o melhor desenvolvimento das três espécies neotropicals de tricogramatídeos, *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983; *Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983 e *Trichogrammatoidea annulata* De Santis, 1972, utilizando-se como parâmetro comparativo as tabelas de vida de fertilidade nos respectivos hospedeiros. Foram estimados a duração média de uma geração (T), taxa líquida de reprodução ( $R_0$ ), razão infinitesimal ( $r_m$ ) e a razão finita de aumento ( $\lambda$ ). A tabela de vida de fertilidade pode ser utilizada para selecionar o hospedeiro alternativo mais adequado para as espécies de tricogramatídeos. *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865) foi o hospedeiro alternativo mais adequado para criação de *T. annulata* e de *T. bruni*; enquanto que para *T. atopovirilia* *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) e/ou *C. cephalonica* foram os hospedeiros mais adequados. *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819) apresentou baixa capacidade de aumento populacional para as 3 espécies de parasitóides, sendo, portanto, uma espécie inadequada como hospedeiro alternativo para as mesmas.

Palavras-chave: Tabela de vida; Hospedeiro alternativo; Parasitóides de ovos; *Trichogramma* spp.

##### Abstract

The objective of this work was to select the factitious host that permit the best development of the three neotropical trichogrammatid species, *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983; *Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983 and *Trichogrammatoidea annulata* De Santis, 1972, using the fertility life table on their respective hosts as a comparative parameter. Mean generation time (T), net reproductive rate ( $R_0$ ), intrinsic rate of natural increase ( $r_m$ ) and the finite rate of increase ( $\lambda$ ) were estimated. A fertility life table can be used to select the most adequate factitious hosts for the trichogrammatid species. *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865) was the most suitable factitious host for rearing of *T. annulata* and *T. bruni*; while *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) and/or *C. cephalonica* were the most suitable hosts for *T. atopovirilia*. *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819) presented a low capacity of population increase for the 3 species of parasitoids, therefore, being an inadequate species as an factitious host.

Keywords: Life table; Factitious host; Egg parasitoid; *Trichogramma* spp.

## 4.1 Introdução

As tabelas de vida são quadros sistemáticos baseados em dados de sobrevivência e fertilidade, confeccionadas para oferecer informações essenciais sobre o crescimento e dinâmica populacional de uma espécie (SILVEIRA NETO et al., 1976; SOUTHWOOD, 1995). Tais tabelas podem auxiliar o controle biológico aplicado quando utilizadas como elemento de avaliação do impacto de inimigos naturais sobre a população de uma determinada praga (VAN LENTEREN; WOETS 1988; BELLOWS-JUNIOR et al., 1992).

Na natureza, um ou vários fatores podem predominar e influenciar a razão real de aumento ( $r$ ) de um inseto. Porém, em condições de laboratório, é possível excluir esses fatores e, assim, determinar a taxa intrínseca de aumento ( $r_m$ ). Esta taxa é definida como a máxima razão de aumento obtida por uma população de distribuição etária fixa, em qualquer combinação particular de fatores físicos do tempo, em condições ótimas de espaço, alimentação e sem a influência de outros fatores. Desta forma, o valor da taxa intrínseca de aumento ( $r_m$ ) não será o mesmo para climas e fontes de alimento diferentes (ANDREWARTHA; BIRCH, 1954).

Assim, a tabela de vida de fertilidade pode ser utilizada para comparar o desempenho biológico de parasitóides a diferentes fatores bióticos, como hospedeiro (OLIVEIRA et al., 2007; PRATISSOLI; PARRA, 2000); e abióticos, como temperatura (PRATISSOLI et al., 2004a; 2004b, 2007). Desta forma, especialmente para espécies de *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), diversos autores têm adotado esta metodologia para comparar linhagens e/ou espécies deste gênero (PAK; OATMAN, 1982; BLEICHER; PARRA 1990; HAILE et al., 2002).

Apesar do gênero *Trichogramma* ser bastante estudado sob vários aspectos em todo o mundo, ainda há carência de informações envolvendo muitas espécies neotropicais. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi selecionar, entre três hospedeiros alternativos largamente utilizados em criações massais, aquele que permita o melhor desenvolvimento das três espécies neotropicais de tricogramatídeos, *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983; *Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983 e *Trichogrammatoidea annulata* De Santis, 1972, utilizando-se como parâmetro comparativo as tabelas de vida de fertilidade nos respectivos hospedeiros.

## 4.2 Material e métodos

### 4.2.1 Criação dos parasitóides

Os insetos foram obtidos da criação estoque do Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), Piracicaba-SP.

Para evitar possível condicionamento pré-imaginal ao hospedeiro de criação, antes da instalação dos experimentos, as espécies que até então vinham sendo mantidas em ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879), foram criadas por três gerações sucessivas em ovos dos seus respectivos hospedeiros naturais (*Gymnandrosoma aurantianum* Lima, 1927 para *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 e *Stenoma catenifer* Walsingham, 1912 para *Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983 e para *Trichogrammatoidea annulata* De Santis, 1972). A partir dos adultos da geração F3 provenientes dos hospedeiros naturais, cada espécie de parasitóide foi criada em três espécies de hospedeiros alternativos: 1) *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865); 2) *A. kuehniella*; e 3) *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819).

As populações dos parasitóides estudados foram mantidas em seus hospedeiros alternativos de acordo com Parra (1997), sendo *A. kuehniella* criada em dieta à base de farinha de trigo integral (97%) e levedura de cerveja (3%) (PARRA, 1997), *C. cephalonica* em dieta à base de germe de trigo (97%) e levedura de cerveja (3%) (BERNARDI et al. 2000) e *S. cerealella* em grãos de trigo (HAJI et al., 2002).

### 4.2.2 Procedimentos experimentais

Fêmeas de 12-24 h de idade, provenientes dos ovos de cada hospedeiro alternativo, foram individualizadas em tubos de vidro (12 x 75 mm), e alimentadas com uma gotícula de mel puro. Para cada fêmea foram oferecidos cartões com 60 ovos (com idade de 0-24h) dos respectivos hospedeiros, sendo os cartões substituídos a cada 24h até a morte da fêmea. Os experimentos foram realizados na 1ª, 10ª e 28ª gerações, em condições controladas ( $25 \pm 1^\circ \text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  UR e fotofase de 14 horas). Foi estimada a duração do período ovo-adulto, viabilidade, razão sexual ( $\text{♀}/\text{♀}+\text{♂}$ ), capacidade de parasitismo (diária e total) e longevidade das fêmeas.

Com base nos resultados obtidos, foram construídas tabelas de vida de fertilidade, sendo  $x$  = ponto médio de cada idade das fêmeas parentais;  $l_x$  = expectativa de vida até a idade  $x$ ;  $m_x$  = fertilidade específica ou número de descendentes por fêmea produzidos na idade  $x$  e que originarão fêmeas;  $l_x m_x$  = número total de fêmeas nascidas na idade  $x$ . Baseando-se nas informações da tabela de vida, foram estimados os seguintes parâmetros para cada tratamento:  $R_0$  (taxa líquida de reprodução, ou seja, a taxa de aumento populacional a cada geração),  $MGT$  (tempo médio de geração),  $r_m$  (taxa intrínseca de crescimento),  $\lambda$  (taxa finita de aumento) e  $DT$  (tempo necessário para a população duplicar). Em seguida, estes valores foram utilizados para obtenção da taxa extrínseca de crescimento  $r_m$  e do intervalo de gerações  $T$  pelo método iterativo (SOUTHWOOD, 1978).

Os parâmetros da tabela de vida de fertilidade e respectivos erros padrão foram estimados através da técnica de “jackknife” (MEYER, et al., 1986) e as médias comparadas pelo teste “t” unilateral, ( $P \leq 0,05$ ), utilizando o software “Lifetable.sas” (MAIA et al., 2000) no ambiente “SAS System”.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 25 repetições (1 fêmea = 1 repetição) por tratamento (cada hospedeiro alternativo = 1 tratamento).

### 4.3 Resultados e discussão

De uma forma geral, para as três espécies de tricogramatídeos estudadas, o intervalo médio entre gerações ( $T$ ), ou seja, a duração média do período entre o nascimento dos indivíduos de uma geração e o da geração seguinte foi significativamente superior quando os parasitóides foram provenientes de *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819) (Tabelas 1, 2 e 3). Especificamente para *Trichogrammatoidea annulata* De Santis, 1972, o valor de  $T$  foi aproximadamente um dia maior em *S. cerealella* do que o constatado quando os hospedeiros *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865) e *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879), foram utilizados.

Tabela 1 – Intervalo entre gerações (T), taxa líquida de reprodução (Ro), taxa intrínseca de crescimento ( $r_m$ ) e taxa finita de aumento ( $\lambda$ ) de *T. annulata* em diferentes hospedeiros alternativos ao longo de gerações sucessivas de laboratório ( $25 \pm 1$  °C,  $70 \pm 10$  % UR e fotofase 14 horas)

Geração	Intervalo entre gerações (T)		
	<i>A. kuehniella</i>	<i>C. cephalonica</i>	<i>S. cerealella</i>
1 <sup>a</sup>	12,96 ± 0,198Aa	11,70 ± 0,136Ba	13,35 ± 0,122Aa
10 <sup>a</sup>	11,25 ± 0,116Bc	11,60 ± 0,092Ba	12,73 ± 0,139Ab
28 <sup>a</sup>	12,33 ± 0,136Bb	11,94 ± 0,097Ca	13,16 ± 0,099Aa
Geração	Taxa líquida de reprodução (Ro)		
	<i>A. kuehniella</i>	<i>C. cephalonica</i>	<i>S. cerealella</i>
1 <sup>a</sup>	64,40 ± 6,914Aa	77,00 ± 5,708Ab	27,29 ± 1,950Bb
10 <sup>a</sup>	52,15 ± 2,612Ba	74,02 ± 3,322Ab	33,28 ± 2,314Ca
28 <sup>a</sup>	54,11 ± 4,805Ba	111,75 ± 8,021Aa	32,21 ± 1,956Ca
Geração	Razão infinitesimal ( $r_m$ )		
	<i>A. kuehniella</i>	<i>C. cephalonica</i>	<i>S. cerealella</i>
1 <sup>a</sup>	0,33 ± 0,006Ba	0,35 ± 0,004Ab	0,26 ± 0,004Ca
10 <sup>a</sup>	0,34 ± 0,003Ba	0,36 ± 0,003Aab	0,25 ± 0,005Ca
28 <sup>a</sup>	0,31 ± 0,006Bb	0,37 ± 0,006Aa	0,26 ± 0,004Ca
Geração	Razão finita de aumento ( $\lambda$ )		
	<i>A. kuehniella</i>	<i>C. cephalonica</i>	<i>S. cerealella</i>
1 <sup>a</sup>	1,39 ± 0,008Bb	1,43 ± 0,006Ab	1,30 ± 0,005Ca
10 <sup>a</sup>	1,41 ± 0,004Ba	1,43 ± 0,005Ab	1,29 ± 0,006Ca
28 <sup>a</sup>	1,36 ± 0,008Bb	1,46 ± 0,009Aa	1,30 ± 0,006Ca

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste “t” unilateral ( $P \leq 0,05$ )

Letras maiúsculas: comparação entre os hospedeiros

Letras minúsculas: comparação das gerações dentro de cada hospedeiro

Tabela 2 – Intervalo entre gerações (T), taxa líquida de reprodução (Ro), taxa intrínseca de crescimento ( $r_m$ ) e taxa finita de aumento ( $\lambda$ ) de *T. atopovirilia* em diferentes hospedeiros alternativos ao longo de gerações sucessivas de laboratório ( $25 \pm 1$  °C,  $70 \pm 10$  % UR e fotofase 14 horas)

Geração	Intervalo entre gerações (T)		
	<i>A. kuehniella</i>	<i>C. cephalonica</i>	<i>S. cerealella</i>
1 <sup>a</sup>	11,79 ± 0,148Aa	11,86 ± 0,166Aa	12,08 ± 0,092Ab
10 <sup>a</sup>	11,32 ± 0,117Ba	11,37 ± 0,141Ba	13,48 ± 0,169Aa
28 <sup>a</sup>	11,10 ± 0,126Ba	10,94 ± 0,167Bb	13,39 ± 0,138Aa
Geração	Taxa líquida de reprodução (Ro)		
	<i>A. kuehniella</i>	<i>C. cephalonica</i>	<i>S. cerealella</i>
1 <sup>a</sup>	77,74 ± 6,904Ab	96,74 ± 8,778Ab	28,68 ± 3,110Ba
10 <sup>a</sup>	79,27 ± 6,642Bb	130,43 ± 6,672Aa	24,52 ± 2,074Ca
28 <sup>a</sup>	106,96 ± 6,655Aa	115,78 ± 8,921Aa	16,87 ± 1,706Bb
Geração	Razão infinitesimal ( $r_m$ )		
	<i>A. kuehniella</i>	<i>C. cephalonica</i>	<i>S. cerealella</i>
1 <sup>a</sup>	0,37 ± 0,007Aa	0,37 ± 0,006Aa	0,30 ± 0,010Ba
10 <sup>a</sup>	0,37 ± 0,005Aa	0,36 ± 0,002Bb	0,28 ± 0,006Cb
28 <sup>a</sup>	0,36 ± 0,006Ba	0,38 ± 0,003Aa	0,25 ± 0,008Cc
Geração	Razão finita de aumento ( $\lambda$ )		
	<i>A. kuehniella</i>	<i>C. cephalonica</i>	<i>S. cerealella</i>
1 <sup>a</sup>	1,43 ± 0,010Aa	1,46 ± 0,009Aa	1,35 ± 0,013Ba
10 <sup>a</sup>	1,45 ± 0,008Aa	1,43 ± 0,003Bb	1,32 ± 0,008Cb
28 <sup>a</sup>	1,44 ± 0,009Aa	1,47 ± 0,005Ba	1,28 ± 0,010Cc

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste “t” unilateral ( $P \leq 0,05$ )

Letras maiúsculas: comparação entre os hospedeiros

Letras minúsculas: comparação das gerações dentro de cada hospedeiro



Tabela 3 – Intervalo entre gerações (T), taxa líquida de reprodução (Ro), taxa intrínseca de crescimento ( $r_m$ ) e taxa finita de aumento ( $\lambda$ ) de *T. bruni* em diferentes hospedeiros alternativos ao longo de gerações sucessivas de laboratório ( $25 \pm 1$  °C,  $70 \pm 10$  % UR e fotofase 14 horas)

Geração	Intervalo entre gerações (T)		
	<i>A. kuehniella</i>	<i>C. cephalonica</i>	<i>S. cerealella</i>
1 <sup>a</sup>	11,85 ± 0,077Bb	11,83 ± 0,209Ba	12,37 ± 0,189Ab
10 <sup>a</sup>	11,84 ± 0,330Bb	11,98 ± 0,122Ba	13,20 ± 0,317Aa
28 <sup>a</sup>	12,26 ± 0,199Ba	11,80 ± 0,132Ba	13,11 ± 0,224Aa
Geração	Taxa líquida de reprodução (Ro)		
	<i>A. kuehniella</i>	<i>C. cephalonica</i>	<i>S. cerealella</i>
1 <sup>a</sup>	47,07 ± 3,954Aa	27,58 ± 3,886Bb	14,72 ± 1,949Ca
10 <sup>a</sup>	28,55 ± 5,339Bb	46,93 ± 4,218Aa	13,72 ± 2,344Ca
28 <sup>a</sup>	23,25 ± 2,925Bb	40,02 ± 2,924Aa	6,71 ± 0,903Cb
Geração	Razão infinitesimal ( $r_m$ )		
	<i>A. kuehniella</i>	<i>C. cephalonica</i>	<i>S. cerealella</i>
1 <sup>a</sup>	0,31 ± 0,006Aa	0,28 ± 0,008Bb	0,22 ± 0,010Ca
10 <sup>a</sup>	0,28 ± 0,012Bb	0,32 ± 0,007Aa	0,19 ± 0,011Cb
28 <sup>a</sup>	0,25 ± 0,010Bb	0,31 ± 0,005Aa	0,14 ± 0,010Cc
Geração	Razão finita de aumento ( $\lambda$ )		
	<i>A. kuehniella</i>	<i>C. cephalonica</i>	<i>S. cerealella</i>
1 <sup>a</sup>	1,36 ± 0,008Aa	1,32 ± 0,011Bb	1,25 ± 0,013Ca
10 <sup>a</sup>	1,32 ± 0,016Bb	1,37 ± 0,009Aa	1,21 ± 0,014Ca
28 <sup>a</sup>	1,29 ± 0,013Bc	1,36 ± 0,007Aa	1,15 ± 0,012Cb

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste “t” unilateral ( $P \leq 0,05$ )

Letras maiúsculas: comparação entre os hospedeiros

Letras minúsculas: comparação das gerações dentro de cada hospedeiro

O mesmo pode-se dizer para a taxa líquida de reprodução (Ro), que revela o número de vezes que a população aumenta a cada geração. Esta taxa foi, de uma forma geral, superior quando se utilizou o hospedeiro *C. cephalonica* ou *A. kuehniella* (Tabelas 1, 2 e 3), indicando que em *S. cerealella* os parasitóides têm, ao longo de sua vida, menor capacidade de gerar descendentes. Valores de Ro semelhantes foram registrados para *Trichogramma exiguum* (OLIVEIRA et al., 2007); *Trichogramma pretiosum* e *Trichogramma acacioi* (PRATISSOLI et

al., 2004b); *Trichogramma bournieri* e *Trichogramma* sp. nr. *mwanzai* (HAILE et al., 2002), também em ovos de *S. cerealella*.

Analisando os valores da razão intrínseca de crescimento populacional ( $r_m$ ) de *T. annulata*, obtiveram-se valores superiores no hospedeiro *C. cephalonica* quando comparado aos demais hospedeiros; para *T. atopovirilia*, os valores de  $r_m$  foram superiores nos hospedeiros *A. kuehniella* e *C. cephalonica*, enquanto que para *T. bruni* em *C. cephalonica* os valores foram superiores (Tabelas 1, 2 e 3). Para todas as espécies, os menores valores foram obtidos quando estes parasitóides foram provenientes de *S. cerealella* (Tabelas 1, 2 e 3).

A taxa intrínseca de aumento ( $r_m$ ) é o principal dado que se obtém ao fazer-se uma tabela de vida de fertilidade (PEDIGO; ZEISS, 1996) e, segundo Andrewartha e Birch (1954), quanto maior o valor de  $r_m$  mais bem sucedida será a espécie, em um determinado ambiente. Desta forma, para *T. annulata* e *T. bruni*, *C. cephalonica* foi o hospedeiro mais indicado para um incremento populacional e criação, enquanto que para *T. atopovirilia* *A. kuehniella* e *C. cephalonica* foram os melhores e igualmente favoráveis. Desta forma, é de se esperar que para produção massal dos referidos parasitóides, visando a programas de Controle Biológico Aplicado, estes sejam os hospedeiros mais adequados.

A razão finita de aumento ( $\lambda$ ), responsável pela indicação do número de fêmeas que são adicionadas à população por cada fêmea, apresentou diferenças significativas entre os hospedeiros. Para *T. annulata* e *T. bruni*, os maiores valores foram registrados em *C. cephalonica*, enquanto que para *T. atopovirilia* os maiores valores foram registrados em *A. kuehniella* e *C. cephalonica*. Seguindo a tendência geral, em todos os casos os menores valores foram obtidos quando estes parasitóides foram provenientes de *S. cerealella* (Tabelas 1, 2 e 3).

Para todas as espécies foram observadas diferenças nos valores de  $R_0$ ,  $r_m$  e  $\lambda$  após gerações sucessivas no mesmo hospedeiro. Para *T. annulata*, em *C. cephalonica*, hospedeiro em que observou-se maior crescimento populacional, os valores de  $R_0$ ,  $r_m$  e  $\lambda$  tenderam a aumentar ao longo das gerações, evidenciando uma aparente adaptação desta espécie neste hospedeiro. Nos demais hospedeiros, estes valores permaneceram constantes ou diminuíram (Tabela 1). Para *T. atopovirilia* e *T. bruni* os resultados foram semelhantes, no entanto quando estes parasitóides foram provenientes de *S. cerealella* os valores de  $R_0$ ,  $r_m$  e  $\lambda$  tenderam a diminuir com o passar das gerações. Interessante é notar que para *T. bruni* estes valores também diminuíram em *A.*

*kuehniella*, hospedeiro sugerido como sendo adequado para algumas espécies de tricogramatídeos (PARRA; ZUCCHI, 2004).

Os resultados demonstraram que os parâmetros obtidos da tabela de vida de fertilidade podem variar de acordo com a espécie hospedeira utilizada, e que estas informações são úteis para indicar o hospedeiro alternativo mais adequado para criação de *T. atopovirilia*, *T. bruni* e *T. annulata*. Muitos trabalhos demonstram a influência de fatores abióticos sobre o potencial reprodutivo de parasitóides; todavia, fatores bióticos, como o hospedeiro alternativo de criação, são normalmente negligenciados, a despeito de também afetarem este potencial, como foi demonstrado neste trabalho.

Em laboratórios de criação massal, é interessante que se obtenha o maior número de insetos no menor tempo possível. No caso de parasitóides, conhecer o hospedeiro que proporciona a maior capacidade de crescimento populacional é imprescindível à obtenção de um sistema de criação com características desejáveis.

#### 4.4 Conclusões

- 1) A tabela de vida de fertilidade pode ser utilizada para selecionar o hospedeiro alternativo mais adequado para as espécies de tricogramatídeos;
- 2) Os resultados de  $R_0$ ,  $r_m$  e  $\lambda$  demonstram que *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865) é o hospedeiro alternativo mais adequado para criação de *Trichogrammatoidea annulata* De Santis, 1972 e de *Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983;
- 3) Para *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983, *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) e/ou *C. cephalonica* são os hospedeiros alternativos mais adequados para a sua produção;
- 4) *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819) apresenta baixa capacidade de aumento populacional para as 3 espécies de parasitóides, não sendo, portanto, uma espécie adequada como hospedeiro alternativo para as mesmas.

## Referências

- ANDREWARTHA, H. G.; BIRCH, L. C. The innate capacity for increase in numbers. In: \_\_\_\_\_ (Ed.). **The distribution and abundance of animals**. Chicago: University of Chicago Press, 1954. p. 31-54.
- BELLOWS JUNIOR, T. S.; VAN DRIESCHE, R.G.; ELKINTON, J.S. Life-table construction and analysis in the evaluation of natural enemies. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v.37, p. 587-614, 1992.
- BERNARDI, E.B.; HADDAD M.L; PARRA J.R. Comparison of artificial diets for rearing *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865) (Lep., Pyralidae) for *Trichogramma* mass production. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 60, p. 45-52, 2000.
- BLEICHER; E.; PARRA, J.R.P. Espécies de *Trichogramma* parasitóides de *Alabama argillacea*. II. Tabela de vida de fertilidade e parasitismo de três populações. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 25, p. 207-214, 1990.
- HAIJ, F.N.P., PREZOTTI, L.; CARNEIRO, J.S.; ALENCAR, J.A. *Trichogramma pretiosum* para o controle de pragas no tomateiro industrial. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil, parasitóides e predadores**. Barueri: Manole, 2002. cap. 28, p. 477-491.
- HAILE, A.T.; HASSAN, S.A.; SITHANANTHAM, S.; OGOL, C.K.P.O.; BAUNGÄRTNER, J. Comparative life table analysis of *Trichogramma bournieri* Pintureau and Babault and *Trichogramma* sp. nr. *mwanzai* Schulten and Feijen (Hym., Trichogrammatidae) from Kenya. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 127, p 287-292, 2002.
- MAIA, H.N.M.; LUIZ, A.J.B.; CAMPANHOLA, C. Statistical inference on associated fertility life table parameters using jackknife technique: computational aspects. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 93, p. 511-518, 2000.
- MEYER, J.S.; INGERSOLL, C.G.; MCDONALD, L.L.; BOYCE, M.S. Estimating uncertainty in population growth rates: jackknife vs. Bootstrap techniques. **Ecology**, Durham, v. 67, p. 1156-1166, 1986.
- OLIVEIRA, H. N.; PRATISSOLI, D.; COLOMBI, C.A.; POLANCZYK, R.A.; DALVI, L.P. Tabela de vida de fertilidade de *Trichogramma exiguum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), **Idesia**, Arica, v. 25, p. 73-76, 2007.
- PAK, G.A.; OATMAN, E.R. Comparative life table, behavior and competition studies of *Trichogramma brevicapillum* and *T. pretiosum*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 32, p. 68-79, 1982.

PARRA, J. R. P. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**, Piracicaba: FEALQ, 1997. cap. 4, p. 121-150.

PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, A.R. *Trichogramma* in Brazil: Feasibility of use after twenty years of research. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, p. 271-281, 2004.

PEDIGO, L. P.; ZEISS, M. R. Developing a degree-day model for predicting insect development, In: PEDIGO, L. P.; ZEISS, M. R. (Ed.). **Analyses in insect ecology and management**. Ames: Iowa State University Press. 1996. p. 67-74.

PRATISSOLI, D.; PARRA, J.R.P. Fertility life table of *Trichogramma pretiosum* (Hym., Trichogrammatidae) in eggs of *Tuta absoluta* and *Phthorimaea operculella* (Lep., Gelechiidae) at different temperatures, **Journal of Applied Entomology**, Berlin, n. 124, p. 339-342, 2000.

PRATISSOLI, D.; FERNANDES, O.A.; ZANUNCIO, J.C.; PASTORI, P.L. Fertility life table of *Trichogramma pretiosum* and *Trichogramma acacioi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae) eggs at different constant temperatures. **Entomological Society of América**, College Park, v. 94, p. 729-731, 2004

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**, Santa Maria, v. 37, p. 618-622, 2007.

PRATISSOLI, D.; ZANUNCIO J.; RODRIGUES VIANNA U.; DE SOUZA ANDRADE J.; MAROTA GUIMARÃES E.; CURITIBA ESPINDULA M. Fertility life table of *Trichogramma pretiosum* and *Trichogramma acacioi* on eggs of *Anagasta kuehniella* at different temperatures. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, p. 193-196, 2004.

SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; VILLA NOVA, N.A. **Manual de ecologia de insetos**. São Paulo: Ceres, 1976. 419p.

SOUTHWOOD, T.R.E. **Ecological methods**. London: Chapman & Hall, 1978. 374p.

\_\_\_\_\_. **Ecological methods**. London: Chapman & Hall, 1995. 524p.

VAN LENTEREN J. C.; J. WOETS. Biological and integrated pest control in greenhouses. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, n. 33 p. 239-269, 1988.

## 5 SELEÇÃO HOSPEDEIRA E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983, *Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983 E *Trichogrammatoidea annulata* De Santis, 1972 COM BASE NA CAPACIDADE DE VÔO

### Resumo

O objetivo do trabalho foi selecionar o hospedeiro alternativo mais adequado e avaliar a qualidade de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983, *Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983 e *Trichogrammatoidea annulata* De Santis, 1972, com base na capacidade de vôo. Os tricogramatídeos foram criados em três espécies de hospedeiros alternativos: *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865), *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) e *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819). Utilizou-se o equipamento modelo ESALQ para avaliar capacidade de vôo, sendo as avaliações feitas nas gerações 1, 10 e 28. A capacidade de vôo foi um bom indicador da qualidade de tricogramatídeos. O hospedeiro alternativo afetou a capacidade de vôo dos parasitóides; assim, para *T. atopovirilia*, *A. kuehniella* foi o melhor hospedeiro alternativo durante as 28 gerações; para *T. annulata*, *A. kuehniella* e *C. cephalonica* foram igualmente adequados, sendo que as duas espécies mencionadas apresentaram capacidade adaptativa aos hospedeiros ao longo das gerações. Os hospedeiros alternativos estudados não se mostraram adequados para a criação de *T. bruni* em laboratório, uma vez que os parasitóides provenientes deste hospedeiro apresentaram menor capacidade de vôo. Com base na atividade de vôo, *S. cerealella* foi o pior hospedeiro alternativo para as 3 espécies de tricogramatídeos.

Palavras-chave: Atividade de vôo; Controle biológico; Controle de qualidade; Criação massal

### Abstract

The objective of this work was to select the most suitable factitious host and to evaluate the quality of *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983, *Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983 and *Trichogrammatoidea annulata* De Santis, 1972 based on flight capacity. The trichogrammatids were reared on three factitious hosts: *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865), *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) and *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819). An equipment, model ESALQ, was utilized to evaluate flight capacity for 1, 10 and 28 generations. Flight capacity was a good indicator for the good quality of the trichogrammatids. Factitious host affected flight capacity of parasitoids; for *T. atopovirilia*, *A. kuehniella* was the best factitious host during 28 generations; for *T. annulata*, *A. kuehniella* and *C. cephalonica* were equally suitable, given that the two mentioned species presented high adaptive capacity to their hosts along the generations. The studied factitious hosts were shown to be inadequate for rearing of *T. bruni* in the laboratory due to low flight capacity. Based on flight activity, *S. cerealella* was the poorest factitious host for the 3 trichogrammatid species.

Keywords: Flight capacity; Biological control; Quality control; Mass rearing

## 5.1 Introdução

Os tricogramátídeos constituem um importante grupo de inimigos naturais com potencial para o controle biológico de lepidópteros-praga, considerando-se que é possível a sua criação utilizando-se hospedeiros alternativos (FLANDERS, 1930; HASSAN, 1993). Porém, a manutenção de *Trichogramma* por várias gerações nos hospedeiros alternativos pode afetar a preferência pelo hospedeiro natural e alterar a sua eficiência no campo (VOEGELÉ, 1978; GOODENOUGH; WITZ, 1985; VAN LENTEREN, 2003).

Assim, o acompanhamento da qualidade de parasitóides criados continuamente em laboratório, em tais hospedeiros alternativos, é fundamental para a manutenção do vigor e da agressividade dos mesmos, sendo uma etapa básica em programas de criação de insetos em laboratório (LEPPLA; FISHER, 1989; BIGLER, 1994; HASSAN, 1994), permitindo a produção contínua de inimigos naturais eficientes no controle de pragas (VAN LENTEREN, 2003).

No Brasil, estudos demonstraram que em programas de controle de qualidade para *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879, a avaliação da qualidade de populações de laboratório pode ser simplificada e direcionada apenas à observação das variáveis longevidade, parasitismo e atividade de vôo (PREZOTTI et al., 2002). A correlação positiva entre a atividade de vôo e a capacidade de parasitismo em campo (BIGLER et al., 1988) apontam para a possível utilização de testes de vôo em condições de laboratório, como característica adequada para o controle de qualidade de inimigos naturais, assim como já demonstrado para algumas espécies de *Trichogramma* (DUTTON; BIGLER, 1995; PREZOTTI et al., 2002). Esse teste, além de ser um método relativamente barato, é rápido e fácil de ser repetido sob condições padronizadas (BIGLER, 1994; DUTTON; BIGLER, 1995).

A atividade de vôo constitui-se em um elemento fundamental na dispersão de insetos, pois através dela abrigo, alimento e hospedeiros podem ser alcançados (SMITH et al., 1990). O início do vôo e o vôo a curtas distâncias são importantes características em programas de liberação de *Trichogramma* visando ao controle biológico de pragas. Estas características podem sofrer modificações ao longo das gerações em laboratório, tornando as populações ineficientes no campo. A qualidade e o desempenho destas populações também podem ser influenciadas pelo hospedeiro de criação ao longo das gerações (VINSON; IWANTSCH, 1980; BIGLER, 1994). Uma vez que o hospedeiro de criação pode afetar características importantes como parasitismo,

emergência e atividade de caminhamento dos tricogramatídeos, é possível que tal variável também afete a habilidade de vôo destes parasitóides. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi responder às seguintes questões: (1) a atividade de vôo pode ser considerada um indicador da qualidade das espécies neotropicais *Trichogramma atopovirilia*, *Trichogramma bruni* e *Trichogrammatoidea annulata*?; (2) o hospedeiro alternativo afeta a atividade de vôo destas espécies?; (3) as espécies apresentam potencial adaptativo aos diferentes hospedeiros ao longo das gerações, em condições de laboratório?. Respostas a estas questões poderão indicar o hospedeiro alternativo mais adequado para criação das espécies estudadas em sistemas de produção massal e aprimorar o sistema de controle de qualidade de espécies de tricogramatídeos produzidas em larga escala.

## 5.2 Material e métodos

### 5.2.1 Criação dos parasitóides

As espécies utilizadas nesse estudo pertenciam à coleção de linhagens mantida pelo Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP, e eram mantidas continuamente no hospedeiro alternativo *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879). Assim, para evitar o possível efeito do condicionamento pré-imaginal ao hospedeiro de criação nos testes realizados, os parasitóides em estudo foram criados por três gerações sucessivas em ovos do hospedeiro natural [*Gymnandrosoma aurantianum* Lima, 1927 para *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 e *Stenomacrus catenifer* Walsingham, 1912 para *Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983 e para *Trichogrammatoidea annulata* De Santis, 1972].

A partir dos adultos da geração F3 provenientes dos hospedeiros naturais, cada espécie de parasitóide foi criada em três espécies de hospedeiros alternativos: 1) *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865); 2) *A. kuehniella*; e 3) *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819).

Para a manutenção dos parasitóides nos hospedeiros alternativos foi adotada a técnica desenvolvida por Parra (1997). A técnica empregada na criação de *A. kuehniella* foi baseada no método desenvolvido por Parra (1997) com dieta à base de farinha de trigo integral (97%) e levedura de cerveja (3%). Para a criação de *C. cephalonica* foi utilizada dieta à base de germe de



trigo (97%) e levedura de cerveja (3%), conforme Bernardi et al. (2000). Para *S. cerealella* foi utilizado trigo em grãos como substrato, conforme descrito por Haji et al. (2002).

## **5.2.2 Procedimentos experimentais**

A qualidade dos parasitóides produzidos continuamente nos diferentes hospedeiros foi avaliada baseando-se na capacidade de vôo nas gerações 1, 10 e 28. Essa capacidade foi medida utilizando-se a câmara de vôo modelo ESALQ, adaptada por Prezotti et al. (2002) a partir do modelo desenvolvido pela IOBC.

### **5.2.2.1 Unidade teste**

A câmara de vôo consiste de um cilindro de PVC (18 cm de altura e 11 cm de diâmetro) cujo interior foi pintado com tinta preta. Na parte superior do cilindro foi colocada uma placa de Petri transparente, pulverizada com “sticky” (isenta de odores) 24 horas antes do início do teste (emergência dos parasitóides). Na parede interna do tubo, e a 2,5 cm da extremidade inferior foi confeccionado um anel (0,5 cm de largura) da mesma cola aplicada na placa de Petri. Este anel foi colocado para servir como barreira aos parasitóides que porventura viessem a caminhar pelas paredes do cilindro, e que deste modo pudessem atingir a placa de Petri de outra forma que não voando. A parte inferior do cilindro foi vedada com cartolina preta, fixada externamente com fita adesiva.

No interior de cada cilindro, na parte central da cartolina preta, foi fixado, com auxílio de fita adesiva, um tubo de vidro (9 x 2,5 cm) (Figura 1) para permitir que houvesse tempo para distensão das asas dos tricogramátídeos, contendo aproximadamente 100 pupas dos parasitóides prestes à emergência. Cada câmara de vôo constituiu uma unidade experimental.

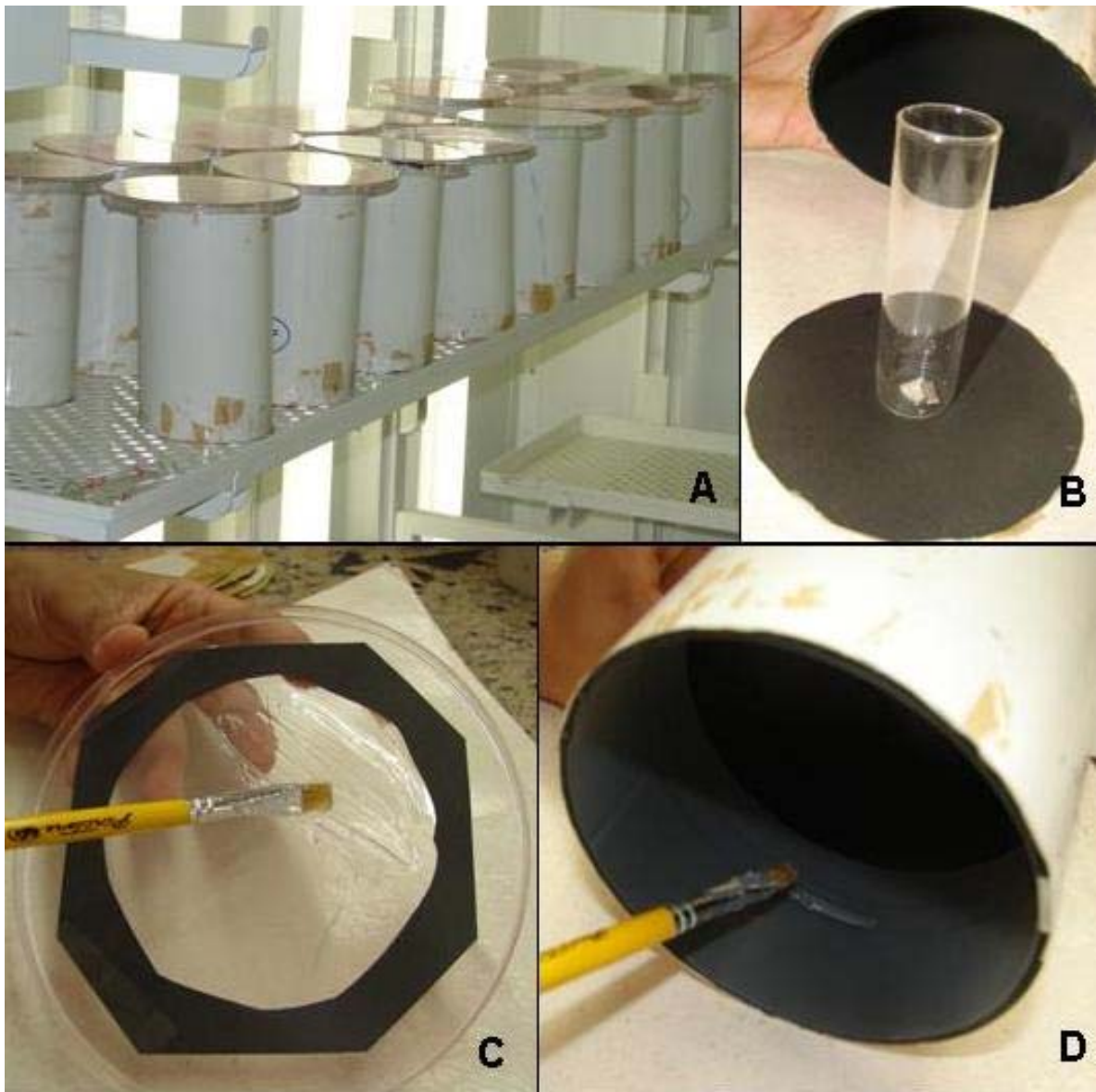


Figura 1 – A - Distribuição das unidades testes em câmara climatizada para avaliação da atividade de vôo de tricogramatídeos em laboratório; B – tubo de ensaio, fixado no centro da região inferior da unidade-teste, para permitir a distensão das asas dos parasitóides; C – placa de Petri transparente, pincelada com cola para captura dos parasitóides em vôo; D - anel de cola confeccionado na região interna do cilindro a 2,5 cm da extremidade inferior como uma barreira para o caminhamento dos parasitóides. Temperatura  $25 \pm 1$  °C,  $70 \pm 10$  % UR e fotofase de 24 horas

### 5.2.2.2 Delineamento experimental

As câmaras de vôo contendo os parasitóides foram dispostas em prateleiras de câmaras climatizadas ( $25\pm 1^\circ$  C,  $60\pm 10\%$  de UR), com iluminação constante, por ser o parasitóide fototrópico positivo. As câmaras foram mantidas nestas condições por três dias desde o início da emergência dos parasitóides.

O ensaio foi instalado em esquema fatorial  $3\times 3$ , com seis repetições, sendo os fatores constituídos (1) pelo hospedeiro – *A. kuehniella*, *C. cephalonica* ou *S. cerealella*; e (2) pela geração testada – 1ª, 10ª e 28ª. Foi registrada a porcentagem de parasitóides encontrados na tampa (voadores), no fundo (não-voadores) e no anel (caminhadores). Também foi avaliada a porcentagem de indivíduos com asas deformadas dentro da categoria dos não-voadores.

### 5.2.2.3 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste LSD ( $P\leq 0,05$ ) utilizando-se o programa SAS. Para *T. annulata*, os valores das variáveis porcentagens de indivíduos capturados na tampa, anel, tubo e com má formação alar foram transformados em  $x^{3,1}$ ,  $x^{0,5}$ ,  $\log(10)$ , respectivamente. Para *T. atopovirilia*, os valores das variáveis porcentagens de indivíduos capturados na tampa e anel foram transformados em  $x^{4,3}$  e  $\log(10)$ , respectivamente, e os valores de porcentagem de indivíduos capturados no tubo e com má formação alar foram transformados em  $\sqrt{x+0,5}$ . Para *T. bruni*, os valores das variáveis porcentagens de indivíduos capturados na tampa e anel foram transformados em  $x^{3,6}$  e  $x^{0,5}$ , respectivamente e os valores de porcentagem de indivíduos capturados no tubo e com má formação alar foram transformados em  $\log(10)$ . Essas transformações foram necessárias devido aos dados não se ajustarem à distribuição normal, seguindo o modelo de potência ótima de Box-Cox (1964). Foi testado o ajuste de equação de regressão linear simples, considerando-se como variável independente o número de gerações e como dependente a porcentagem de indivíduos voadores. Antes da realização da análise, foi feita a análise exploratória dos dados, verificando-se a homogeneidade de variâncias e normalidade pelos testes de Bartlett (BARTLETT, 1937) e Shapiro-Wilk (SHAPIRO; WILK, 1965), respectivamente.

### 5.3 Resultados e discussão

Houve interação significativa do fator hospedeiro com o fator geração para *T. annulata* e *T. bruni*, demonstrando que o hospedeiro alternativo de criação que originou a maior percentagem de insetos voadores variou de acordo com a geração avaliada. O mesmo não aconteceu com *T. atopovirilia*, uma vez que, independentemente da geração avaliada, o mesmo hospedeiro sempre proporcionou a maior percentagem de parasitóides voadores.

Para *T. annulata*, os hospedeiros que proporcionaram a maior percentagem de parasitóides voadores foram *A. kuehniella* e *C. cephalonica* (Tabela 1). A percentagem média de indivíduos caminhadores e não-voadores tendeu a diminuir ao longo das gerações, em todos os hospedeiros de criação incluindo, *S. cerealella*, evidenciando uma aparente adaptação a estas espécies na criação contínua em laboratório desse parasitóide (Figura 2).

Tabela 1 – Atividade de vôo de *T. annulata* criado em diferentes hospedeiros alternativos ao longo de gerações sucessivas de laboratório, utilizando-se como critério de avaliação a percentagem de indivíduos capturados em diferentes locais das unidades-teste e a percentagem de parasitóides deformados. Temperatura  $25 \pm 1$  °C,  $70 \pm 10$  % UR e fotofase de 24 horas

Médias (%) $\pm$ EPM					
Hospedeiro	Geração	Tampa (voadores)	Anel (caminhadores)	Fundo (não voadores)	Deformados <sup>1</sup>
<i>A. kuehniella</i>	1 <sup>a</sup>	54,28 $\pm$ 6,50Bb	4,05 $\pm$ 1,64Bb	41,65 $\pm$ 5,35Aa	16,06 $\pm$ 16,19Ba
	10 <sup>a</sup>	84,49 $\pm$ 2,61Aa	12,61 $\pm$ 2,40Ba	2,90 $\pm$ 0,82Bb	58,33 $\pm$ 16,78Aa
	28 <sup>a</sup>	85,98 $\pm$ 1,76Ba	11,89 $\pm$ 1,71Aa	2,11 $\pm$ 0,51Bb	33,33 $\pm$ 4,35Aa
<i>C. cephalonica</i>	1 <sup>a</sup>	79,32 $\pm$ 3,52Ab	10,78 $\pm$ 3,19Ab	9,88 $\pm$ 3,01Ba	50,16 $\pm$ 9,76Aa
	10 <sup>a</sup>	69,42 $\pm$ 2,83CBc	25,18 $\pm$ 3,70Aa	5,39 $\pm$ 1,32Ba	66,67 $\pm$ 21,14Aa
	28 <sup>a</sup>	94,18 $\pm$ 0,91Aa	4,51 $\pm$ 1,02Bc	1,30 $\pm$ 0,53Bb	16,67 $\pm$ 9,81Bb
<i>S. cerealella</i>	1 <sup>a</sup>	53,12 $\pm$ 8,24Bb	4,21 $\pm$ 0,90Bb	42,65 $\pm$ 8,02Aa	12,20 $\pm$ 2,15Ba
	10 <sup>a</sup>	77,81 $\pm$ 1,65Ba	7,93 $\pm$ 0,61Ba	14,25 $\pm$ 2,10Ab	39,47 $\pm$ 7,11Aa
	28 <sup>a</sup>	74,85 $\pm$ 3,61Ca	8,74 $\pm$ 1,51BAa	16,39 $\pm$ 2,55Ab	19,06 $\pm$ 4,30Ba

<sup>1</sup> Percentagem de deformados em relação ao total de parasitóides não-voadores

Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste LSD ( $P \leq 0,05$ ), (g.l = 4;  $P < 0,0001$ )

Letras maiúsculas: comparação entre os hospedeiros

Letras minúsculas: comparação das gerações dentro de cada hospedeiro

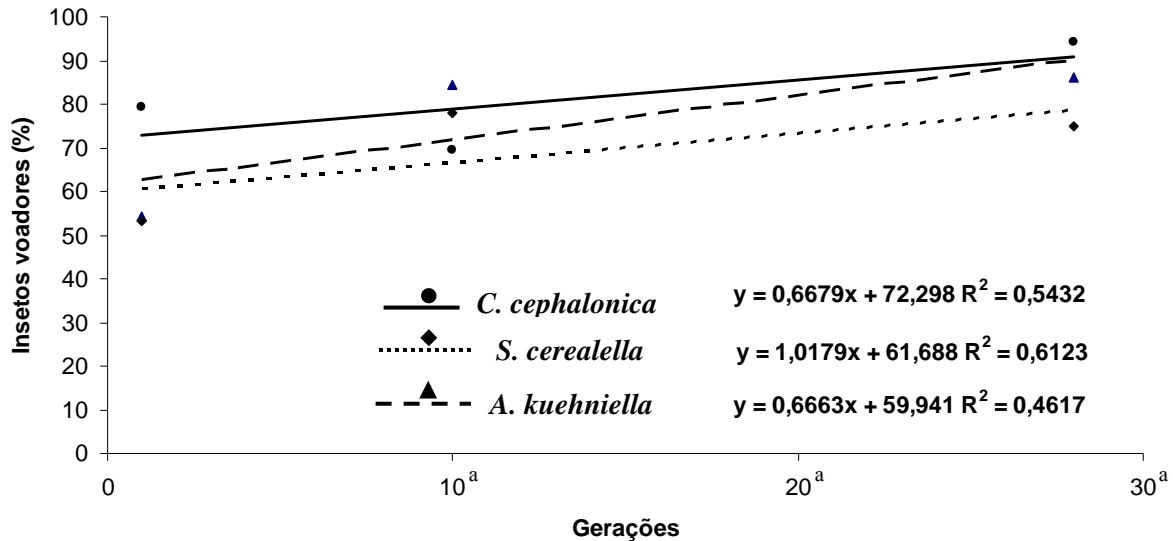


Figura 2 – Resposta da atividade de vôo, para o monitoramento da qualidade de *T. annulata*, ao longo das gerações 1<sup>a</sup>, 10<sup>a</sup> e 28<sup>a</sup>, utilizando-se como critério de avaliação a porcentagem de indivíduos voadores. Temperatura 25 ± 1 °C, 70 ± 10 % UR e fotofase de 24 horas. (P=0,0028)

Para *T. atopovirilia*, a maior porcentagem de parasitóides voadores foi constatada para os indivíduos provenientes de *A. kuehniella*, sendo que nos demais hospedeiros, a porcentagem média de voadores não alcançou 80% nas três gerações avaliadas (Tabela 2); além disso, a 1<sup>a</sup> e 28<sup>a</sup> gerações foram as que proporcionaram uma maior porcentagem de indivíduos voadores (Tabela 3). *T. atopovirilia* não apresentou alteração em sua atividade de vôo ao longo das gerações nos diferentes hospedeiros de criação, visto a inexistência de significância (P= 0,4500) nas análises de regressão realizadas.

Tabela 2 – Atividade de vôo de *T. atopovirilia* criado em diferentes hospedeiros alternativos ao longo de gerações sucessivas de laboratório, utilizando-se como critério de avaliação a porcentagem de indivíduos capturados em diferentes locais das unidades-teste e a porcentagem de parasitóides deformados. Temperatura  $25 \pm 1$  °C,  $70 \pm 10$  % UR e fotofase de 24 horas

Médias (%) $\pm$ EPM					
Hospedeiro	Geração	Tampa (voadores)	Anel (caminhadores)	Fundo (não voadores)	Deformados <sup>1</sup>
<i>A. kuehniella</i>	1 <sup>a</sup>	93,25 $\pm$ 0,60	5,31 $\pm$ 0,82	1,45 $\pm$ 0,57	63,33 $\pm$ 17,70
	10 <sup>a</sup>	78,03 $\pm$ 2,01	9,50 $\pm$ 2,31	12,41 $\pm$ 1,30	75,23 $\pm$ 6,71
	28 <sup>a</sup>	87,28 $\pm$ 1,06	9,22 $\pm$ 1,21	3,5 $\pm$ 0,40	24,76 $\pm$ 2,53
<b>Média</b>		<b>86,19 <math>\pm</math> 1,22A</b>	<b>8,01 <math>\pm</math> 1,44A</b>	<b>5,78 <math>\pm</math> 0,75B</b>	<b>54,44 <math>\pm</math> 8,98A</b>
<i>C. cephalonica</i>	1 <sup>a</sup>	70,97 $\pm$ 3,55	17,96 $\pm$ 2,87	11,07 $\pm$ 2,14	41,45 $\pm$ 13,65
	10 <sup>a</sup>	63,67 $\pm$ 3,04	22,26 $\pm$ 3,34	14,07 $\pm$ 2,38	69,04 $\pm$ 13,13
	28 <sup>a</sup>	77,27 $\pm$ 2,50	15,67 $\pm$ 2,19	7,07 $\pm$ 1,19	16,67 $\pm$ 16,74
<b>Média</b>		<b>70,64 <math>\pm</math> 3,03B</b>	<b>18,63 <math>\pm</math> 2,80B</b>	<b>10,74 <math>\pm</math> 1,90A</b>	<b>42,38 <math>\pm</math> 14,50B</b>
<i>S. cerealella</i>	1 <sup>a</sup>	68,77 $\pm$ 4,12	24,47 $\pm$ 3,42	6,77 $\pm$ 0,98	57,69 $\pm$ 3,10
	10 <sup>a</sup>	57,98 $\pm$ 3,03	21,54 $\pm$ 1,91	16,76 $\pm$ 2,51	77,74 $\pm$ 7,62
	28 <sup>a</sup>	76,22 $\pm$ 1,45	14,65 $\pm$ 1,94	9,13 $\pm$ 0,80	13,83 $\pm$ 3,73
<b>Média</b>		<b>67,66 <math>\pm</math> 2,86B</b>	<b>20,22 <math>\pm</math> 2,42B</b>	<b>10,88 <math>\pm</math> 1,43A</b>	<b>49,75 <math>\pm</math> 4,81B</b>

<sup>1</sup>Porcentagem de deformados em relação ao total de parasitóides não-voadores

Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste LSD ( $P \leq 0,05$ ), ( $g.l = 4$ ;  $P < 0,0001$ )

Letras maiúsculas nas colunas: comparação entre os hospedeiros

Tabela 3 – Atividade de vôo de *T. atopovirilia* criado em diferentes hospedeiros alternativos ao longo de gerações sucessivas de laboratório, utilizando-se como critério de avaliação a porcentagem de indivíduos capturados em diferentes locais das unidades-teste e a porcentagem de parasitóides deformados. Temperatura  $25 \pm 1$  °C,  $70 \pm 10$  % UR e fotofase de 24 horas

Médias (%) $\pm$ EPM				
Geração	Tampa (voadores)	Anel (caminhadores)	Fundo (não voadores)	Deformados <sup>1</sup>
<b>1<sup>a</sup></b>	93,25 $\pm$ 0,60	5,31 $\pm$ 0,82	1,45 $\pm$ 0,57	63,33 $\pm$ 17,70
	70,97 $\pm$ 3,55	17,96 $\pm$ 2,87	11,07 $\pm$ 2,14	41,45 $\pm$ 13,65
	68,77 $\pm$ 4,13	24,47 $\pm$ 3,42	6,77 $\pm$ 0,98	57,69 $\pm$ 3,10
<b>Média</b>	<b>77,66 <math>\pm</math> 2,26A</b>	<b>15,91 <math>\pm</math> 2,37AB</b>	<b>2,44 <math>\pm</math> 1,23A</b>	<b>54,15 <math>\pm</math> 11,48A</b>
<b>10<sup>a</sup></b>	78,03 $\pm$ 2,01	9,50 $\pm$ 2,30	12,41 $\pm$ 1,30	75,23 $\pm$ 6,71
	63,67 $\pm$ 3,04	22,26 $\pm$ 3,34	14,07 $\pm$ 2,38	69,04 $\pm$ 13,13
	57,98 $\pm$ 3,03	21,54 $\pm$ 1,91	16,76 $\pm$ 2,51	77,74 $\pm$ 7,62
<b>Média</b>	<b>66,56 <math>\pm</math> 2,69B</b>	<b>17,76 <math>\pm</math> 2,51A</b>	<b>3,80 <math>\pm</math> 2,06B</b>	<b>74,00 <math>\pm</math> 9,15A</b>
<b>28<sup>a</sup></b>	87,28 $\pm$ 1,06	9,22 $\pm$ 1,21	3,50 $\pm$ 0,40	24,76 $\pm$ 2,53
	77,27 $\pm$ 2,50	15,67 $\pm$ 2,19	7,07 $\pm$ 1,19	16,67 $\pm$ 16,74
	76,22 $\pm$ 1,45	14,65 $\pm$ 1,94	9,13 $\pm$ 0,80	13,83 $\pm$ 3,73
<b>Média</b>	<b>80,25 <math>\pm</math> 1,67A</b>	<b>13,18 <math>\pm</math> 1,78B</b>	<b>2,58 <math>\pm</math> 0,79A</b>	<b>18,42 <math>\pm</math> 7,66B</b>

<sup>1</sup>Porcentagem de deformados em relação ao total de parasitóides não-voadores

Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste LSD ( $P \leq 0,05$ ), ( $g.l = 2$ ;  $P < 0,0001$ )

Letras maiúsculas nas colunas: comparação entre as gerações

Para *T. bruni*, observou-se maior porcentagem de parasitóides voadores em insetos provenientes de *C. cephalonica* e *A. kuehniella* (Tabela 4). Interessante notar que essa espécie apresentou perda progressiva da capacidade de voar ao passar das gerações, especialmente quando criado em *S. cerealella* e *C. cephalonica*, mostrando tendência contrária àquela observada para *T. annulata*. A perda da atividade de vôo foi notada até mesmo no hospedeiro normalmente sugerido como sendo o mais adequado para a criação de tricogramatídeos (PARRA; ZUCCHI, 2004), ou seja, aquele que proporcionou inicialmente a maior porcentagem de voadores. Portanto, a perda da qualidade ficou demonstrada pela medição da atividade de vôo (Figura 3).

Tabela 4 – Atividade de vôo de *T. bruni* criado em diferentes hospedeiros alternativos ao longo de gerações sucessivas de laboratório, utilizando-se como critério de avaliação a porcentagem de indivíduos capturados em diferentes locais das unidades-teste e a porcentagem de parasitóides deformados. Temperatura  $25 \pm 1$  °C,  $70 \pm 10$  % UR e fotofase de 24 horas

Médias (%) $\pm$ EPM					
Hospedeiro	Geração	Tampa (voadores)	Anel (caminhadores)	Fundo (não-voadores)	Deformados <sup>1</sup>
<i>A. kuehniella</i>	1 <sup>a</sup>	87,82 $\pm$ 2,41Aab	3,98 $\pm$ 1,09Ab	1,33 $\pm$ 0,44Bb	66,67 $\pm$ 21,15Aa
	10 <sup>a</sup>	93,06 $\pm$ 0,80Aab	4,30 $\pm$ 0,64Bb	2,64 $\pm$ 0,59Ab	63,47 $\pm$ 91,13Aa
	28 <sup>a</sup>	81,19 $\pm$ 2,55Aa	12,19 $\pm$ 1,92Ca	6,63 $\pm$ 0,91Ba	33,81 $\pm$ 6,58Ba
<i>C. cephalonica</i>	1 <sup>a</sup>	97,07 $\pm$ 0,29Ba	2,51 $\pm$ 0,45Ac	0,41 $\pm$ 0,32Bb	16,67 $\pm$ 6,15Bb
	10 <sup>a</sup>	86,88 $\pm$ 1,73Ab	9,19 $\pm$ 1,41ABb	3,93 $\pm$ 1,10Ab	0,00 $\pm$ 0,01Bc
	28 <sup>a</sup>	68,95 $\pm$ 2,55Bc	19,16 $\pm$ 1,66Ba	11,89 $\pm$ 1,33Aa	43,00 $\pm$ 3,62Ba
<i>S. cerealella</i>	1 <sup>a</sup>	82,28 $\pm$ 4,70Aa	8,06 $\pm$ 2,23Ab	9,65 $\pm$ 3,20Aa	0,00 $\pm$ 0,02Bc
	10 <sup>a</sup>	85,58 $\pm$ 2,75Aa	10,03 $\pm$ 2,15Ab	4,39 $\pm$ 1,22Ab	48,50 $\pm$ 18,30Ab
	28 <sup>a</sup>	67,82 $\pm$ 4,35Bb	25,72 $\pm$ 3,93Aa	6,46 $\pm$ 0,74Bab	90,24 $\pm$ 3,35Aa

<sup>1</sup>Porcentagem de deformados em relação ao total de parasitóides não-voadores

Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste LSD ( $P \leq 0,05$ ), (g.l = 4;  $P < 0,0054$ )

Letras maiúsculas: comparação entre os hospedeiros

Letras minúsculas: comparação das gerações dentro de cada hospedeiro

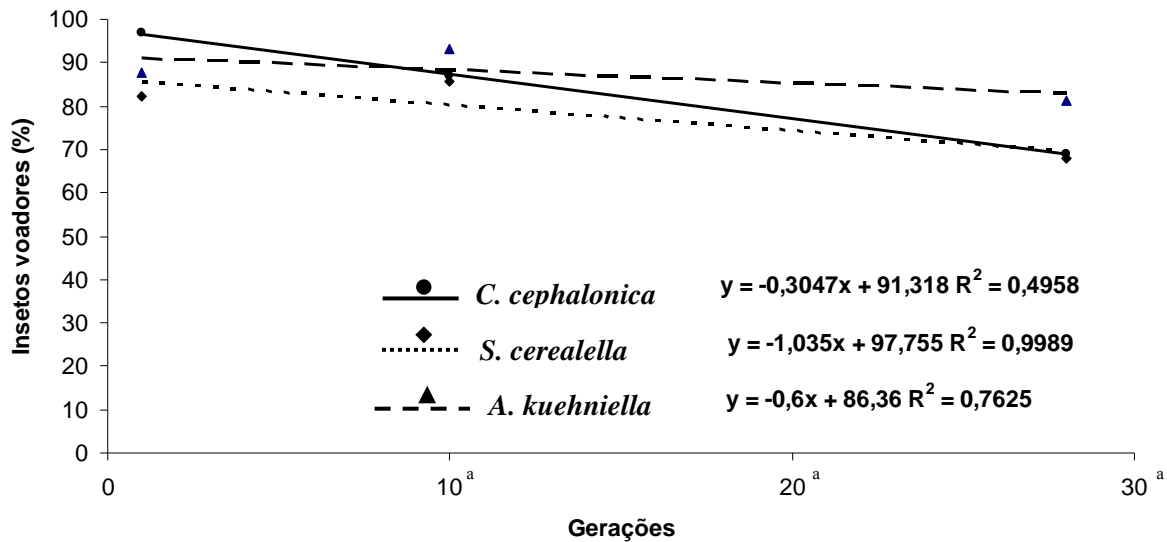


Figura 3 – Resposta da atividade de vôo, para o monitoramento da qualidade de *T. bruni*, ao longo das gerações 1ª, 10ª e 28ª, utilizando-se como critério de avaliação a porcentagem de indivíduos voadores. Temperatura  $25 \pm 1$  °C,  $70 \pm 10$  % UR e fotofase de 24 horas. ( $P=0,0012$ )

Para todas as espécies, a porcentagem de indivíduos não-voadores na população foi minoria, e menos de 50% deles, em média, apresentaram deformação alar.

Independente da geração e da espécie em estudo, *S. cerealella* foi sempre o hospedeiro que proporcionou a menor porcentagem de indivíduos voadores, à semelhança do observado para outras espécies de *Trichogramma* (SALMANOVA et al., 1992). Sabe-se que muitas espécies de *Trichogramma* apresentam preferência por certos hospedeiros e o seu desempenho pode ser influenciado pelo hospedeiro alternativo utilizado na criação massal (WAJNBERG; HASSAN, 1994). Diversos autores também encontraram diferenças nas características biológicas de *Trichogramma* quando criados em *S. cerealella*, mostrando que parasitóides criados neste hospedeiro apresentam maior duração do ciclo (GOODENOUGH et al., 1983), menor capacidade de parasitismo (PARRA et al., 1990; GOMES; PARRA, 1998; OLIVEIRA et al., 2005) e longevidade (LEWIS et al., 1976; HOHMANN et al., 1988).



A fecundidade de *Trichogramma* está diretamente relacionada ao seu tamanho e ao hospedeiro de origem (BOURCHIER et al., 1993). Desta forma, o tamanho das fêmeas é determinado pelo hospedeiro no qual foi criado. Assim, fêmeas que emergem de hospedeiros menores são menos fecundas e vivem menos do que aquelas que emergem de hospedeiros maiores (FLANDERS, 1935; BIGLER et al., 1987; HOHMANN et al., 1988; BAI et al., 1992). No presente estudo, as diferenças no tamanho dos hospedeiros podem explicar o menor desempenho (menor porcentagem de insetos voadores) dos parasitóides provenientes de *S. cerealella*.

O teste de vôo permitiu identificar o melhor hospedeiro alternativo e o efeito da criação sucessiva sobre o mesmo na capacidade de vôo das espécies de parasitóides estudadas. De um modo geral, considerando-se o parâmetro atividade de vôo, a espécie *T. annulata* e *T. atopovirilia* são mais fáceis de serem mantidas em laboratório, tendo em vista a sua adaptação aos hospedeiros de criação. A espécie *T. bruni* mostrou-se mais específica na escolha do hospedeiro.

Os resultados encontrados para *T. annulata* coincidem com aqueles obtidos por Prezotti et al. (2002) que não relataram alterações na porcentagem de indivíduos voadores para *Trichogramma pretiosum* ao longo das gerações 7, 13 e 21, quando criados em *A. kuehniella*.

Para *T. bruni*, embora não tenham sido constatadas diferenças entre os hospedeiros *A. kuehniella* e *C. cephalonica* a espécie não se adaptou aos mesmos, já que apresentou perda na capacidade de vôo (qualidade), ao longo das gerações avaliadas. Bigler et al. (1988), avaliando a atividade de vôo de *Trichogramma maidis*, observaram o declínio na atividade de vôo desta espécie em laboratório quando mantida por vários anos no mesmo hospedeiro alternativo. Dutton e Bigler (1995) também observaram diminuição da atividade de vôo de quatro linhagens de *Trichogramma brassicae* (sinonímia de *T. maidis*) nas gerações 39 e 42, criadas em *A. kuehniella*.

Desta forma, o desempenho do parasitóide está relacionado à qualidade do hospedeiro (FLANDERS, 1935; BAI et al., 1992; SCHMIDT, 1994). *T. bruni* não se adaptou a nenhum dos 3 hospedeiros testados. Provavelmente ele necessita de nutrientes que não estejam presentes em *A. kuehniella*, *C. cephalonica* e *S. cerealella*. Outros hospedeiros alternativos devem ser testados para esta espécie.

Van Bergeijk et al. (1989) demonstraram que quando o parasitóide é criado no hospedeiro adequado, além da adequabilidade ao hospedeiro alternativo em termos nutricionais, existe

também o potencial para uma resposta adaptativa do parasitóide quando criado por muitas gerações no mesmo hospedeiro. No presente trabalho isto foi válido para *T. annulata* e *T. atopovirilia*. No entanto, para *T. bruni*, provavelmente, um efeito da seleção genética em combinação com a sua alta especificidade ao hospedeiro natural podem ter levado à não adaptação aos hospedeiros alternativos. O desempenho de espécies de parasitóides mantidas em laboratório durante muitas gerações pode sofrer alterações como resultado da mudança ambiental do laboratório ou devido a alterações genéticas da população, pois estas populações constituem apenas uma pequena amostra da variabilidade genética presente na espécie e, portanto, podem não se adaptar ao seu novo ambiente. Em criações massais, a adaptação depois da introdução é importante para o estabelecimento da espécie (HOPPER et al., 1993).

O comportamento de aceitação de *T. annulata* e *T. atopovirilia* ao hospedeiro alternativo de criação pode ser atribuído à experiência que a fêmea adquiriu durante o desenvolvimento larval (condicionamento pré-imaginal) e ao aprendizado após a experiência de oviposição, conforme mencionado por Kaiser et al. (1989) para *T. maidis* em relação à aceitação do hospedeiro alternativo *A. kuehniella*.

#### 5.4 Conclusões

- 1) A capacidade de vôo é um bom indicador da qualidade de tricogramatídeos;
- 2) O hospedeiro alternativo afeta a capacidade de vôo dos parasitóides;
- 3) *T. atopovirilia* tem em *A. kuehniella* o seu melhor hospedeiro alternativo durante 28 gerações de laboratório;
- 4) *T. annulata* pode ser criado em *A. kuehniella* ou *C. cephalonica* sem perda da atividade de vôo ao longo das gerações;
- 5) *T. atopovirilia* e *T. annulata* apresentam capacidade adaptativa aos hospedeiros alternativos ao longo das gerações;
- 6) Nenhum dos 3 hospedeiros alternativos estudados, *A. kuehniella*, *C. cephalonica* e *S. cerealella* é adequado para a criação de *T. bruni* em laboratório por gerações sucessivas;
- 7) *S. cerealella* é o pior hospedeiro para as 3 espécies de parasitóides estudadas.

## Referências

- BAI, B.; LUCK, R.F.; FORSTER, L.; STEPHENS, B.; JANSSEN, J.A.M. The effect of host size on quality attributes of the egg parasitoid, *Trichogramma pretiosum*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v.64, p.37-48, 1992.
- BARTLETT, M. S. Properties of sufficiency and statistical tests. **Proceedings of the Royal Society of London, Series A**, London, v.160, p.268–282, 1937.
- BERNARDI, E.B.; HADDAD M.L; PARRA J.R. Comparison of artificial diets for rearing *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865) (Lep., Pyralidae) for *Trichogramma* mass production. **Revista Brasileira Biologia**, São Carlos, v.60, p.45-52, 2000.
- BIGLER, F. Quality control in *Trichogramma* production. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S.A. (Ed.). **Biological Control with Egg Parasitoids**. Wallingford: CAB International, 1994. cap. 3, p. 93-111.
- BIGLER, F.; MEYER, A.; BOSSHART, S. Quality assessment in *Trichogramma maidis* Pintureau et Voegelé reared from eggs of the factitious hosts *Ephestia kuehniella* Zell. and *Sitotroga cerealella* (Olivier). **Journal of Applied Entomogy**, Berlin, v.104, p.340-353, 1987.
- BIGLER, F.; BIERI, M.; FRITSCHY, A.; SEIDEL, K. Variation in locomotion between laboratory strains of *Trichogramma maidis* and its impact on parasitism of eggs of *Ostrinia nubilalis* in the field. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v.49, p.283-290, 1988.
- BOURCHIER, R.S.; SMITH, S.M.; SONG, S.J. Host acceptance and parasitoid size as predictors of parasitoid quality for mass-reared *Trichogramma minutum*. **Biological Control**, Oxford, v.3, p. 135-139,1993.
- BOX, G.E.P.; COX, D.R. An analysis of tranformations. **Journal of the Royal Statistical Society**, Series B, Oxford, v.26, n.2, p.211-252, 1964.
- DUTTON, A; BIGLER, F. Flight activity assesment of the egg parasitoid *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in laboratory and field conditions. **Entomophaga**, Paris, v. 40, p. 223-233, 1995.
- FLANDERS, S.E. Mass production of egg parasites of the genus *Trichogramma*, **Hilgardia**, Berkeley, v. 4, p. 465-501, 1930.
- \_\_\_\_\_ Host influence on the prolificacy and size of *Trichogramma*. **The Pan-Pacific Entomologist**, San Francisco, v. 11, p. 175-177, 1935.

GOMES, S. M. ; PARRA, J. R. P. The parasitization as a tool for factitious hosts selection for *Trichogramma galloi* Zucchi and *T. pretiosum* Riley. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM EGG PARASITIDS, 1998, Cali. **Proceedings...** Cali , 1998. p.13-23.

GOODENOUGH, J.L.; WITZ, J.A. Modeling augmentative releases of *Trichogramma pretiosum*. **The Soutwestern Entomologist**, Dallas, v.8, p.169-189, 1985.

GOODENOUGH, J.L.; HARTSTACK, A.W.; KING, E.G. Developmental models for *Trichogramma pretiosum* reared on four hosts. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 76, p. 1095-1102, 1983.

HAJI, F.N.P. PREZOTTI, L.; CARNEIRO, J.S.; ALENCAR, J.A. *Trichogramma pretiosum* para o controle de pragas no tomateiro industrial. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil, parasitóides e predadores**. Barueri: Manole, 2002. cap. 28, p. 477-491.

HASSAN, S. The mass rearing and utilization of *Trichogramma* to control lepidopterous pests: achievements and outlook. **Pesticide Science**, London, v.37, p. 387- 391, 1993.

\_\_\_\_\_. Strategies to select *Trichogramma* species for use in biological control, In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S.A. (Ed. ). **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: CAB Internacional, 1994. cap.2, p. 55-71.

HOHMANN, C.L.; LUCK, R.F.; OATMAN, E.R. A comparasion of longevity and fecundity of adult *Trichogramma platneri* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared from eggs of the cabbage looper and the angoumois grain moth, with and without access to honey. **Journal of Economic Entomology**, Maryland, v.81, p. 1307-1312, 1988.

HOPPER, K.R.; ROUSH, R.T.; POWELL, W. Management of genetics of biological control introductions. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 38, p. 27-51, 1993.

KAISER L., PHAM-DELEGUE M.H; MASSON C. Behavioral study of plasticity in host preferences of *Trichogramma maidis* (Hym. Trichogrammatidae). **Physiological Entomology**, Oxford, v. 14, p. 53-60, 1989.

LEPPLA, N.C.; FISHER. W.R. Total quality control in insect mass production for insect pest management. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 108, p. 452-461, 1989.

LEWIS, W.J.; NORDLUND, D.A.; GROSS JR, H.R.; PERKINS, W.D. Production and performance of *Trichogramma* reared on eggs of *Heliothis zea* and other hosts. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 5, p. 449-452, 1976.

OLIVEIRA, H. N; COLOMBI, C. A.; PRATISSOLI, D. ; PEDRUZZI, E.; DALVI, L. P. Capacidade de parasitismo de *Trichogramma exiguum* criados em dois hospedeiros alternativos por diversas gerações. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, p. 284-288, 2005.

PARRA, J.R.P. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Trichogramma e o Controle Biológico Aplicado**. Piracicaba: Fealq, 1997. cap. 4, p. 21-150.

PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, A.R. *Trichogramma* in Brazil: Feasibility of use after twenty years of research. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, p. 271-281, 2004.

PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; SILVEIRA-NETO, S.; HADDAD, M.L. Biology and thermal requirements of *Trichogramma galloi* Zucchi and *T. distinctum* Zucchi, on two alternative hosts. **Les Colloques de I'NRA**, Paris, n. 56, p. 81-84, 1990.

PREZOTTI, L.; PARRA, J.R.P.; VENCOSKY, R.; DIAS, C.T.S.; CRUZ, I.; CHAGAS, M.CM. Teste de Vôo como Critério de Avaliação da Qualidade de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae): Adaptação de Metodologia. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, p. 411-417, 2002.

SALMANOVA, L.M.; TSHERNYSHEV, W.B.; OLIFER, V.V.; GREENBERG, S.M.; AFONIMA, V.M. Gradual changes of *Trichogramma* in the course of laboratory rearing (*Trichogramma evanescens* – Hymenoptera, Trichogrammatidae). **Zoologichesky Zhurnal**, Moscow, v. 71, p. 90-96, 1992.

SHAPIRO, S.S.; WILK, M.B. An analysis of variance test for normality. **Biometrika**, London, v. 52, p. 591-611, 1965.

SCHMIDT, JM. Host recognition and acceptance by *Trichogramma*. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S.A. (Ed.). **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: CAB International, 1994. cap. 6, p. 165-199.

SMITH, S.H.; CARROW, J.R.; LAING, J.E. Inundative release of the egg parasitoid, *Trichogramma minuntum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), against forest insect such as the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae): The Ontario Project 1982-1986. **Entomological Society of Canada**, Ontario, v. 153, p. 1-87, 1990.

VAN BERGEIJK, K.E.; BIGLER, F.; KAASHOEK, N.K.; PAK, G.A. Changes in host acceptance and host suitability as an effect of rearing *Trichogramma maidis* on a factitious host. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 52, p. 229-238, 1989.

VAN LENTEREN, J.C. Improving the reliability of biological control by applying quality control of natural enemies. **IOBC/OILB Bulletin**, Antibes, v. 16, p. 85-88, 1992.

\_\_\_\_\_. Need for quality control of mass-produced biological control agents. In: VAN LENTEREN, J.C. (Ed.). **Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures**. Wallingford: CAB International, 2003. cap. 1, p. 1-18.

VINSON, S.B.; IWANTSCH, G.F. Host suitability for insect parasitoids. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 25, p. 397-419, 1980.

VOEGELÉ, J. Utilisation des *Trichogrammes*. **Les Colloques de l'INRA**, Paris, v. 14, p. 447-452, 1978.

WAJNBERG, E.; HASSAN, S.A. **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: British Library, 1994. 286p.

**6 CRIAÇÃO *in vitro* DE *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983, *Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983 E *Trichogrammatoidea annulata* De Santis, 1972**

**Resumo**

O objetivo do trabalho foi testar a aceitação do ovo artificial e avaliar o desenvolvimento *in vitro* de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983, *Trichogrammatoidea annulata* De Santis, 1972 e *Trichogramma bruni* Nagaraja, numa dieta desenvolvida para espécies de *Trichogramma* e numa dieta modificada a partir desta dieta. Foram comparadas as hemolinfas de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) e de *Heliothis virescens* Fabr. para testar a aceitação do ovo artificial. A dieta padrão foi composta por holotécidos pupais de *D. saccharalis* (65%), gema de ovo (18%), soro fetal bovino (8,5%), hidrolisado de lactoalbumina (8,5%) e anticontaminantes (0,3%); para a dieta modificada, substituíram-se os holotécidos pupais de *D. saccharalis* por holotécidos de *H. virescens*. As fêmeas das 3 espécies realizaram postura no ovo artificial contendo holotécidos pupais de *D. saccharalis* e de *H. virescens*, com acentuada preferência pela segunda espécie. A dieta padrão permitiu a oviposição pelas 3 espécies; no entanto, não permitiu o desenvolvimento das mesmas. A dieta modificada permitiu o desenvolvimento apenas de *T. atopovirilia*, desde o parasitismo até a emergência dos adultos. *T. atopovirilia* criado *in vitro* se adaptou rapidamente ao meio artificial, e na geração F1 quando criado no hospedeiro alternativo, apresentou características semelhantes aos insetos criados *in vivo*. Trata-se do primeiro registro, para a ciência, da criação de *T. atopovirilia in vitro*.

Palavras-chave: Criação *in vitro*; Tricogramatídeos; Controle biológico

**Abstract**

The objective of this study was to verify artificial egg acceptance and to evaluate the *in vitro* development of *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983, *Trichogrammatoidea annulata* De Santis, 1972 and *Trichogramma bruni* Nagaraja, in a diet developed for *Trichogramma* species and a modified *Trichogramma* diet. Hemolymphs of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) and *Heliothis virescens* Fabr. were tested for artificial egg acceptance. The standard diet was composed of pupal holotissues of *D. saccharalis* (65%), egg yolk (18%), bovine fetal serum (8,5%), lactalbumin hydrolysate (8,5%) and anti-contaminants (0,3%); for the modified diet, pupal holotissues of *D. saccharalis* were substituted with holotissues of *H. virescens*. The females of the three species laid eggs on the artificial egg containing pupal holotissues of *D. saccharalis* and *H. virescens*, with preference for the second species. The standard diet permitted oviposition by the 3 species but not development of the species. The modified diet permitted the development of *T. atopovirilia*, from parasitism to emergency of adults. *T. atopovirilia* reared *in vitro* adapted rapidly to artificial media, and when F1 generations were reared on an artificial host, they presented similar characteristics to those insects reared *in vivo*. This is treated as the first scientific report on rearing of *T. atopovirilia in vitro*.

Key words: *In vitro* rearing; Trichogrammatids; Biological control

## 6.1 Introdução

A grande importância dos parasitóides do gênero *Trichogramma* em programas de Controle Biológico (PARRA, 1997) justifica a busca incessante de técnicas de criação eficientes para sua produção em larga escala.

*Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983, *Trichogrammatoidea annulata* De Santis, 1972 e *Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983 são espécies com potencial para uso em programas de controle biológico no Brasil. Para que possam ser utilizados nestes programas, são necessárias técnicas de produção massal para a obtenção de grande número de parasitóides, as quais são atualmente conduzidas utilizando-se hospedeiros alternativos.

Assim, pesquisas têm sido conduzidas com o objetivo de desenvolver técnicas que permitam a criação de parasitóides em meios artificiais (produção *in vitro*), onde não é exigida a produção do hospedeiro alternativo, visando à redução dos custos de produção (XIE et al., 1986; CÔNSOLI; PARRA 1997a; 1997b; 1999a; 2002; GRENIER, 1997; NORDLUND et al., 1997; MAGRO; PARRA, 2004; HESLIN et al., 2005a; 2005b;). E esta produção *in vitro* de parasitóides tem avançado nos últimos anos e hoje já existem vários casos de sucesso de criação destes inimigos naturais em dietas artificiais (CÔNSOLI; PARRA 1997a; 1997b; 1999b; 2002; HESLIN et al., 2005a, 2005b; NOTARTE; MERRITT, 2001; THOMPSON, 1999). A produção *in vitro* seria o método ideal, pois dispensaria a criação de duas espécies e suprimiria diversas etapas da produção (PARRA, 1993), embora existam ainda muitos problemas para que possa ser utilizada em atividades rotineiras de laboratório.

Para o caso das espécies neotropicais, *T. atopovirilia*, *T. bruni* e *T. annulata*, não existem trabalhos relacionados à sua criação *in vitro*. Assim, torna-se importante o desenvolvimento de pesquisas, a fim de se desenvolver uma técnica de criação destes inimigos naturais em dietas artificiais, que forneçam subsídios para incrementar programas de controle biológico de pragas no Brasil, ou mesmo para facilitar estudos nutricionais e fisiológicos que permitam um melhor conhecimento da relação parasitóide: hospedeiro.

Desta forma, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a aceitação de substratos de oviposição para os referidos parasitóides, bem como a viabilidade de meios artificiais para seu desenvolvimento, comparando a qualidade dos insetos produzidos *in vivo* e *in vitro*.



## 6.2 Material e métodos

### 6.2.1 Aceitação do substrato de oviposição

Para testar a aceitação do ovo artificial, para as três espécies de parasitóides em estudo, foram comparadas a hemolinfa de duas espécies de lepidópteros, *Diatraea saccharalis* (Fabr.) e *Heliothis virescens* Fabr., como fontes indutoras de oviposição.

A hemolinfa foi coletada de lagartas de último instar, conforme Parra e Cònsoli (1992). As lagartas foram submetidas a um tratamento térmico em banho-maria (60-65°C, durante 12-15 minutos), para inativação das fenoloxidasas, evitando a melanização da hemolinfa (SHAPIRO; IGNOFFO, 1973). A seguir, as lagartas foram tratadas com álcool 70% (durante 10 minutos) para esterilização superficial. Para a coleta da hemolinfa foi cortado um par das falsas pernas, e em seguida a hemolinfa extravasada foi recolhida em um frasco esterilizado. O material foi centrifugado (4.000 rpm, durante 3 minutos) e o sobrenadante coletado, diluído a 70% e filtrado (Millipore de 0,22 µm). A seguir, a hemolinfa foi depositada nos ovos artificiais e, posteriormente, oferecida aos parasitóides.

A confecção dos ovos artificiais foi baseada na metodologia descrita por Cònsoli e Parra (1999b), sendo constituído de uma membrana plástica de polietileno (9-10 µm de espessura), e moldado a partir de um sistema térmico de deformação que consiste no aquecimento de uma placa metálica constituída por 64 orifícios (4 mm de diâmetro/cada), onde se coloca o filme plástico a ser deformado. Abaixo desta placa, existe uma campânula ligada a uma bomba de vácuo. Esta bomba é acionada, promovendo uma pressão negativa no interior da campânula capaz de produzir depressões semi-esféricas na membrana utilizada.

Antes da sua utilização, os ovos artificiais foram esterilizados em luz germicida no interior de uma capela de fluxo laminar. Posteriormente, estes foram transferidos para placas plásticas, com a parte convexa voltada para baixo e exposta aos parasitóides na proporção de 6:1 (parasitóides: ovo), proporção esta determinada por Cònsoli e Parra (1999b). As cavidades foram preenchidas com a hemolinfa; em seguida, as placas foram acondicionadas em câmaras climatizadas mantidas a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas.

O parasitismo foi permitido por 24 horas. Após este período, foram realizadas as avaliações do parasitismo, sendo amostrados e observados em microscópio estereoscópico 24 dos

64 “ovos” de cada tratamento, que foi composto por 5 repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ( $P \leq 0,05$ ).

### **6.2.2 Desenvolvimento dos parasitóides na dieta padrão com holotécidos pupais de *D. saccharalis***

O desenvolvimento das três espécies de tricogramatídeos foi testado na dieta padrão desenvolvida para *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 e *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (CÔNSOLI; PARRA, 2000). O meio foi composto por holotécidos pupais de *D. saccharalis* (65%), gema de ovo (18%), soro fetal bovino (8,5%), hidrolisado de lactoalbumina (8,5%) e anticontaminantes (0,3%).

Para a extração dos holotécidos, pupas de *D. saccharalis*, criadas em dieta artificial (PARRA; MISHFELDT, 1992), foram submetidas ao mesmo tratamento térmico, centrifugação e esterilização descritos anteriormente. Foram utilizadas pupas de 1-2 dias de idade, comprimidas em uma seringa descartável, sendo o líquido, oriundo do maceramento, coletado em tubos de eppendorf. Todo o procedimento de preparo da dieta foi realizado em capela de fluxo laminar, mantendo-se as condições assépticas do meio.

A dieta foi depositada nos ovos artificiais e oferecida aos parasitóides; o parasitismo foi permitido por 24 horas; após este período, foram realizadas avaliações do parasitismo (número de ovos: ovo artificial).

### **6.2.3 Desenvolvimento dos parasitóides numa dieta modificada contendo holotécidos pupais de *H. virescens***

Foi testada uma nova dieta, a partir da dieta padrão, substituíram-se os holotécidos pupais de *D. saccharalis* por holotécidos de *H. virescens*. A dieta foi depositada nos ovos artificiais e oferecida aos parasitóides, sendo o parasitismo permitido por 24 horas; após este período, foram feitas avaliações do parasitismo (número de ovos: ovo artificial), viabilidade larval e pupal, porcentagem de emergência (adultos normais e defeituosos) e a duração do período ovo-adulto.

#### 6.2.4 Qualidade dos parasitóides criados *in vivo* x *in vitro*

Comparou-se a performance das fêmeas de *T. atopovirilia* (as duas outras espécies não se desenvolveram na dieta artificial), produzidas *in vitro* e *in vivo*, avaliando-se o número de ovos parasitados/fêmea, porcentagem de emergência, longevidade, razão sexual e o período ovo-adulto. Assim, na criação *in vivo* as fêmeas foram mantidas no hospedeiro alternativo *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879), adotando-se a técnica desenvolvida por Parra (1997).

Fêmeas recém-emergidas (12-24 h de idade), provenientes dos dois sistemas de criação, foram individualizadas em tubos de vidro (12 x 75 mm), tampados com filme de PVC e alimentadas com uma gotícula de mel puro. Em cada tubo foram oferecidos cartões com 60 ovos (idade 0-24h) do hospedeiro alternativo *A. kuehniella*, sendo os cartões substituídos a cada 24h, no mesmo horário, até a morte das fêmeas. Os tubos foram mantidos em câmara climatizada regulada a  $25 \pm 1^\circ \text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas.

A performance das fêmeas, provenientes da geração F1, *in vitro* e *in vivo*, também foram avaliadas e comparadas com base na capacidade e viabilidade de parasitismo e longevidade dos adultos, sendo ambas criadas no hospedeiro alternativo, *A. kuehniella*.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com dois tratamentos (criação *in vivo* e *in vitro*) com 25 repetições cada um, constituída por 1 fêmea. Os parâmetros biológicos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ), utilizando-se o programa SAS.

### 6.3 Resultados e discussão

*Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983, *Trichogrammatoidea annulata* De Santis, 1972 e *Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983 aceitaram o ovo artificial para oviposição. As hemolinfas de *Heliothis virescens* Fabr., e *Diatraea saccharalis* (Fabr.), forneceram estímulos para induzir a oviposição pelas fêmeas das 3 espécies de tricogramatídeos; no entanto, a resposta aos estímulos de oviposição foi diferente entre as espécies. Os parasitóides sempre depositaram um maior número de ovos quando foi oferecida hemolinfa de *H. virescens* (Figura 1). Estas diferenças podem estar relacionadas às variações na concentração de nutrientes, especialmente de

aminoácidos, (estimulantes de oviposição) (NETTLES et al., 1985) e que estão presentes na hemolinfa das diferentes espécies de lepidópteros. Provavelmente, a hemolinfa de *H. virescens* apresenta uma maior quantidade de nutrientes que induzem o parasitismo por estas espécies.

O número de ovos colocados por *T. atopovirilia* foi bem superior aos valores obtidos por *T. annulata* e *T. bruni*, em ovos artificiais contendo hemolinfa de *H. virescens* ou *D. saccharalis*. Como comentado anteriormente, a despeito de variações, sempre, para as 3 espécies avaliadas, houve preferência por “ovos” contendo hemolinfa de *H. virescens* e os valores foram decrescentes na seguinte ordem: *T. atopovirilia*, *T. annulata* e *T. bruni* (Figura 1).

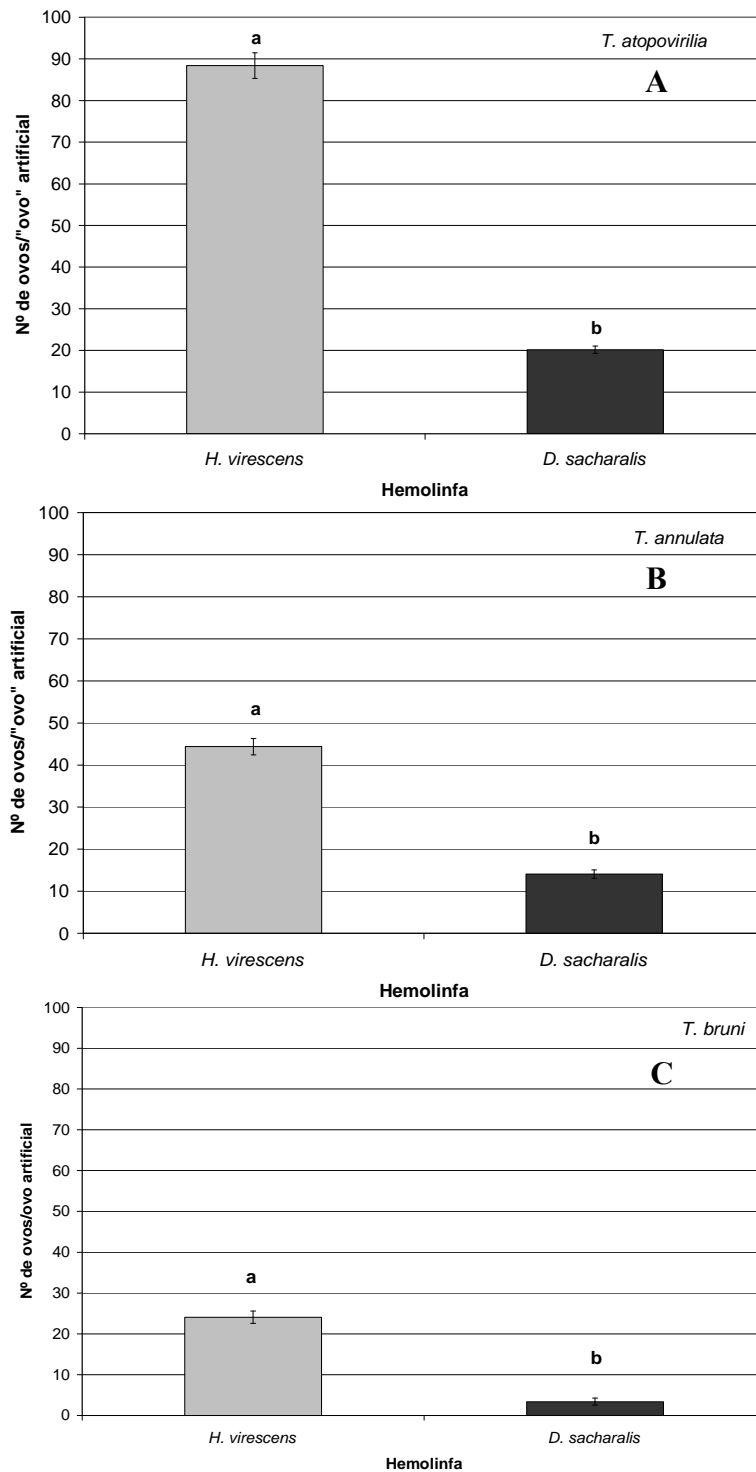


Figura 1 – Número médio ( $\pm$  EPM) de ovos de *T.atopovirilia* (A), *T. annulata* (B) e *T. bruni* (C) depositados por ovo artificial, contendo hemolinfa de *D. sacharalis* e *H. virescens* ( $25 \pm 1$  °C,  $70 \pm 10$  % UR e fotofase 14 horas). Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ )

A dieta padrão (desenvolvida para *T. pretiosum* e *T. galloi*) permitiu a oviposição das três espécies de parasitóides (Tabela 1). Para *T. bruni*, o número de ovos depositados foi extremamente reduzido, enquanto que para as demais espécies obteve-se um maior número de ovos: ovo artificial, com valores próximos aos encontrados para *T. pretiosum*, criado na mesma dieta (CÔNSOLI; PARRA, 2000). No entanto, a dieta não permitiu o desenvolvimento destes ovos, provavelmente pelo fato dos holotécidos pupais de *D. saccharalis* não conterem os componentes essenciais ao desenvolvimento destas espécies. Não existe relato de *T. atopovirilia*, *T. annulata* e *T. bruni* parasitando ovos de *D. saccharalis*, o que poderia reforçar tal hipótese.

Tabela 1 – Número médio ( $\pm$  EPM) de ovos/ovo artificial de *T. atopovirilia*, *T. annulata* e *T. bruni* na dieta padrão\*. Temperatura:  $25 \pm 1$  °C, 70  $\pm$  10 % UR e fotofase 14 horas

Número de ovos/ovo artificial		
<i>T. atopovirilia</i>	<i>T. annulata</i>	<i>T. bruni</i>
46,72 $\pm$ 1,02	37,99 $\pm$ 0,74	1,91 $\pm$ 0,21

\* Composição da dieta padrão: holotécidos pupais de *D. saccharalis* (65%), gema de ovo (18%), soro fetal bovino (8,5%), hidrolisado de lactalbumina (8,5%) e anticontaminantes (0,3%)

A dieta modificada (substituição dos holotécidos pupais de *D. saccharalis* por holotécidos de *H. virescens*) não permitiu o parasitismo das espécies *T. annulata* e *T. bruni*; no entanto, permitiu o parasitismo e o desenvolvimento completo de *T. atopovirilia* (Figura 2).

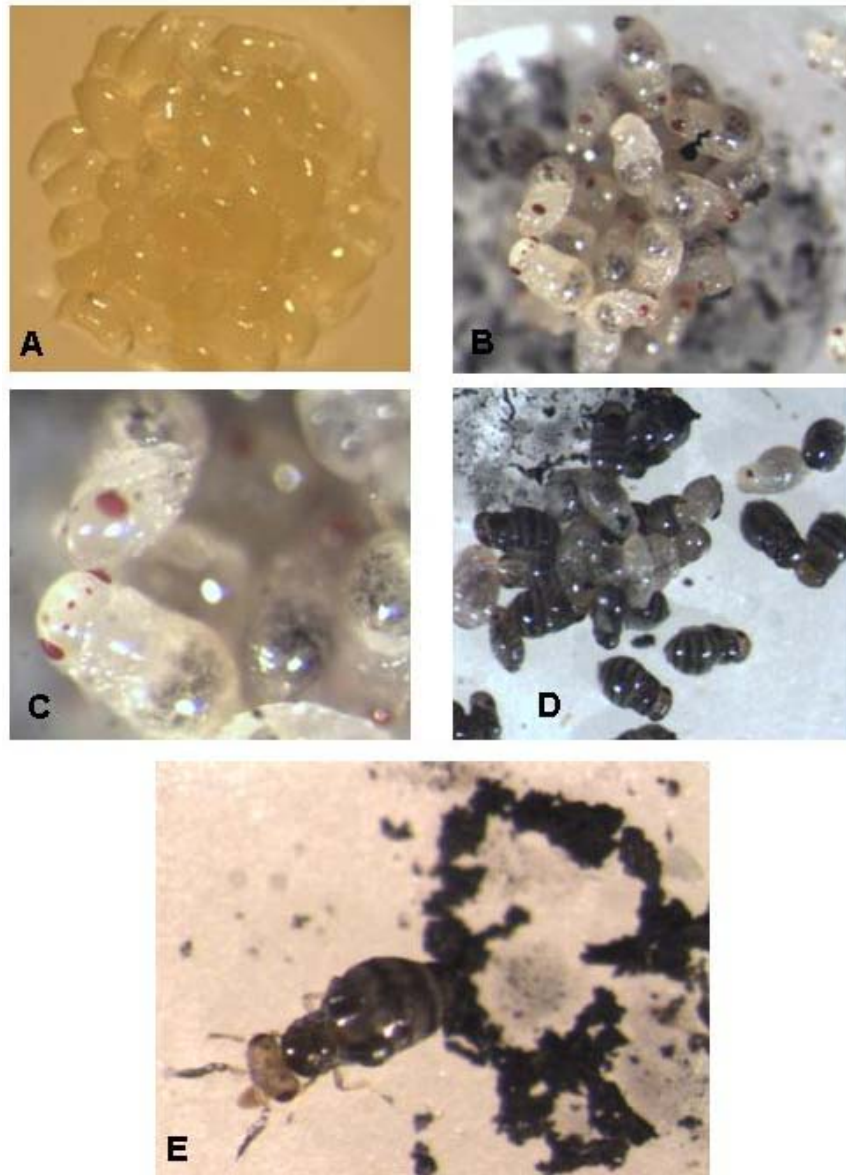


Figura 2— Desenvolvimento de *Trichogramma atopovirilia* em dieta contendo holotecidos pupais de *Heliothis virescens*. Larvas (A) e pupas no início do desenvolvimento (B); detalhe da pupa (C); pupa prestes a emergência; (D); emergência do adulto do ovo artificial (E). ( $25 \pm 1$  °C,  $70 \pm 10$  % UR e fotofase 14 horas

O número médio de ovos/ovo artificial foi de 47,80 (Tabela 2), valor próximo ao encontrado para *T. pretiosum* em meios artificiais (CÔNSOLI; PARRA, 1999c; 2000).

Tabela 2 – Número médio ( $\pm$  EPM) de ovos/ovo artificial, viabilidade larval e pupal; % de adultos deformados e duração do ciclo (ovo-adulto) de *T. atopovirilia* na dieta modificada, contendo holotecido pupal de *H. virescens*. Temperatura:  $25 \pm 1$  °C,  $70 \pm 10$  % UR e fotofase 14 horas

<i>T. atopovirilia</i>				
Nº de ovos/ovo artificial	Viabilidade larval (%)	Viabilidade pupal (%)	Adultos deformados (%)	Duração (ovo-adulto)
47,80 $\pm$ 1,93	68,44 $\pm$ 6,92	56,79 $\pm$ 8,61	12,01 $\pm$ 5,06	13,06 $\pm$ 0,12

A viabilidade larval e pupal foram altas (68,44; 56,79, respectivamente), comparando-se com valores encontrados na literatura com meios artificiais elaborados com componentes de insetos para *Trichogramma* (STRAND; VINSON, 1985; NORDLUND et al., 1997; CÔNSOLI; PARRA, 1996). A remoção do excesso de umidade dentro das placas de criação, durante a fase final de desenvolvimento pupal, favoreceu a emergência dos adultos, pois de acordo com CÔnsoli e Parra (1996) a manutenção desta umidade interfere negativamente na emergência de *Trichogramma* criado *in vitro*, além de diluir a dieta e interferir no desenvolvimento dos parasitóides.

A porcentagem de adultos deformados foi baixa (12,01%), provavelmente devido ao volume da dieta, em cada ovo, ser proporcionalmente adequado ao número de fêmeas/ovo artificial, levando as larvas a consumirem todo o conteúdo da dieta. Os adultos deformados apresentaram asas atrofiadas e/ou não distendidas e abdome exageradamente desenvolvido, estas deformações ocorridas com tricogramatídeos provenientes de dietas artificiais também foram relatadas por outros autores (LI, 1992; DAHLAN; GORDH, 1998; CÔNSOLI; PARRA, 2000).

A duração do período ovo-adulto (13,36 dias) foi prolongada diferindo dos dados da literatura para esta espécie no hospedeiro natural *Gymnandrosoma aurantianum* Lima 1927 (MOLINA et al., 2005) e alternativos, *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) e *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865) (DIAS, dados não publicados). Nordlund et al. (1997) também encontraram prolongamento no período de desenvolvimento de *Trichogramma minutum* Riley, em meios artificiais, assim como CÔnsoli e Parra (1996) verificaram que o desenvolvimento de ovo-adulto



foi alongado para *T. pretiosum* criado em dieta artificial; por outro lado, não observaram diferenças para *T. galloi* produzido nos dois sistemas de criação (*in vivo* e *in vitro*).

O parasitismo e o desenvolvimento de *T. annulata* e *T. bruni* provavelmente não foram obtidos devido às exigências nutricionais dessas espécies serem diferentes das de *T. atopovirilia*. Espécies e linhagens de *Trichogramma* criados em hospedeiros artificiais têm demonstrado exigências nutricionais distintas, evidenciando a necessidade do desenvolvimento de uma dieta para cada espécie e/ou linhagem do parasitóide (CÔNSOLI; PARRA, 1996;1999c). O conhecimento das exigências nutricionais de parasitóides é de fundamental importância para que sejam elaborados meios artificiais adequados ao seu desenvolvimento. Deste modo, novos meios artificiais devem ser testados, a fim de obter um meio nutricionalmente adequado ao desenvolvimento destas espécies.

A capacidade de parasitismo das fêmeas de *T. atopovirilia* provenientes da criação *in vitro* foi significativamente reduzida quando comparada às fêmeas emergidas do hospedeiro alternativo (Tabela 3), resultando numa redução de cerca de 35%. No entanto, a capacidade de parasitismo observada para as fêmeas oriundas da dieta artificial (74 ovos/fêmea), se assemelham ao número médio de ovos parasitados/fêmea observados para espécies de *Trichogramma* criado *in vivo*, sobre hospedeiros naturais ou alternativos e que, conforme Parra e Zucchi (1986) está na faixa de 70 a 120 ovos. Além disso, as fêmeas provenientes da criação *in vivo* estavam sendo mantidas no hospedeiro alternativo *A. kuehniella* por várias gerações e, possivelmente, a adequação das fêmeas ao hospedeiro levou a um maior número de ovos parasitados.

As fêmeas provenientes da criação *in vitro* parasitaram 80% do total de ovos entre três e quatro dias, enquanto que as fêmeas provenientes do hospedeiro alternativo alcançaram este valor num período de tempo maior, ou seja, entre seis e sete dias (Figura 3).

Cônsoli e Parra (1996) obtiveram um ritmo de parasitismo semelhante para *T. galloi*, as fêmeas parasitaram 80% dos ovos nos primeiros quatro dias após a emergência, independente do hospedeiro *in vivo* ou *in vitro*.

Tabela 3 – Número médio ( $\pm$  EPM) de ovos parasitados/fêmea, duração do ciclo (ovo-adulto), longevidade (fêmeas e machos), viabilidade e razão sexual de *T. atopovirilia* criado *in vivo* e *in vitro*. Temperatura:  $25 \pm 1$  °C,  $70 \pm 10$  % UR e fotofase 14 horas

Geração Parental	Tratamentos	
	<i>In vivo</i>	<i>In vitro</i>
Nº de ovos parasitados	115,40 $\pm$ 11,08a	73,80 $\pm$ 10,98b
Duração (dias)	10,35 $\pm$ 0,09a	10,63 $\pm$ 0,07a
Longevidade (fêmeas)	11,76 $\pm$ 0,60a	7,50 $\pm$ 0,68b
Longevidade (machos)	4,52 $\pm$ 0,30a	3,30 $\pm$ 0,47b
Viabilidade (%)	99,36 $\pm$ 0,32a	99,01 $\pm$ 0,46a
Razão Sexual	0,65 $\pm$ 0,03a	0,50 $\pm$ 0,05b

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ )

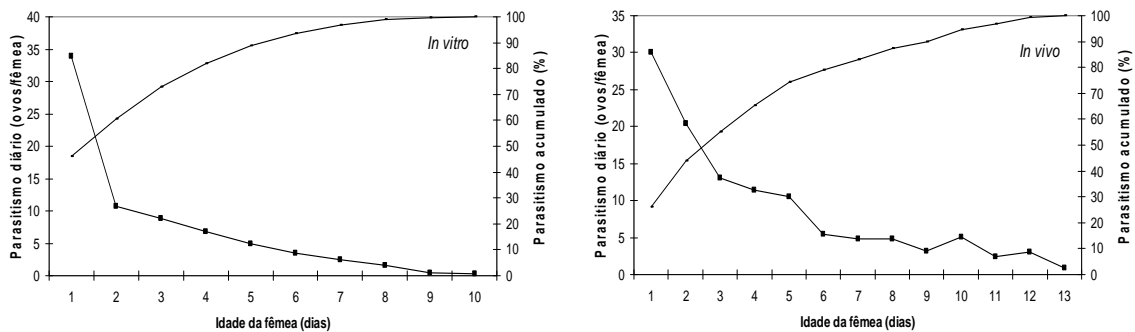


Figura 3 – Parasitismo diário e acumulado de *T. atopovirilia* da geração parental em dois sistemas de criação (*in vitro* e *in vivo*) ( $25 \pm 1$  °C,  $70 \pm 10$  % UR e fotofase 14 horas)

Para a duração do ciclo (ovo-adulto) e porcentagem de emergência não se constataram diferenças significativas entre os tratamentos; entretanto, para a longevidade (fêmeas e machos) e razão sexual foram observadas diferenças significativas. A longevidade dos adultos provenientes do meio artificial foi menor (Tabela 3). Apesar das diferenças encontradas, para alguns parâmetros, entre os parasitoides *in vitro* e *in vivo*, os valores obtidos *in vitro* estão dentro da faixa recomendada como padrão de qualidade pela IOBC, para *Trichogramma brassicae* Bezd., *T. cacoeciae* Marchal e *T. dendrolimi* Matsumura (VAN LENTEREN, 2003). Desta forma, os resultados da presente pesquisa demonstraram a potencialidade da criação de *T. atopovirilia in vitro*.

Para a progênie (geração F1) não foi observada diferença significativa, nas características biológicas, entre as fêmeas de *T. atopovirilia* provenientes da criação *in vitro* e *in vivo* (Tabela 4). Diferenças significativas foram encontradas apenas para a longevidade dos machos, demonstrando que os machos descendentes de pais provenientes de um meio artificial são menos longevos. Em termos, práticos este resultado não comprometeria o programa de controle biológico, visto que os machos não interferem diretamente no parasitismo da praga (COMINS; WELLINGS, 1985).

Quanto ao ritmo de parasitismo as fêmeas provenientes da progênie *in vitro* tendem a parasitar 80% do total de ovos no período de cinco a seis dias, enquanto que para as fêmeas provenientes da progênie *in vivo* necessitaram de um período um pouco maior, entre sete e oito dias (Figura 4).

Tabela 4 – Número médio ( $\pm$  EPM) de ovos parasitados/fêmeas, duração do ciclo (ovo-adulto), longevidade (fêmeas e machos), viabilidade e razão sexual de *T. atopovirilia* originária da criação *in vitro* (criada em *A. kuehniella*) comparada com as fêmeas da geração F1 *in vivo*. Temperatura:  $25 \pm 1$  °C,  $70 \pm 10$  % UR e fotofase 14 horas

Geração F1	Tratamentos	
	<i>In vivo</i>	<i>In vitro</i> *
Nº de ovos parasitados	132,88 $\pm$ 12,25a	119,88 $\pm$ 11,00a
Duração (dias)	10,18 $\pm$ 0,07a	9,99 $\pm$ 0,05a
Longevidade (fêmeas)	10,80 $\pm$ 0,59a	10,04 $\pm$ 0,89a
Longevidade (machos)	5,08 $\pm$ 0,30a	3,80 $\pm$ 0,26b
Viabilidade (%)	99,43 $\pm$ 0,59a	98,37 $\pm$ 0,46a
Razão Sexual	0,57 $\pm$ 0,05a	0,60 $\pm$ 0,05a

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). \* Fêmeas originárias da criação *in vitro* (criadas em *A. kuehniella*) comparada com as fêmeas da geração F1 *in vivo*

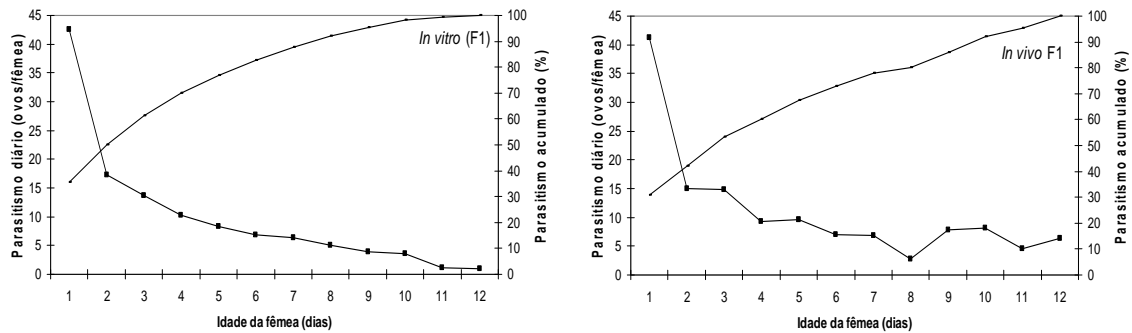


Figura 4 – Parasitismo diário e acumulado de *T. atopovirilia* originária da criação *in vitro* (criada em *A. kuehniella*) comparada com as fêmeas da geração F1 *in vivo*. Temperatura:  $25 \pm 1$  °C,  $70 \pm 10$  % UR e fotofase 14 horas

Os resultados encontrados para a progênie demonstraram uma rápida adaptação destes indivíduos ao hospedeiro alternativo, ou seja, após uma geração no hospedeiro artificial a progênie da criação *in vitro* parasita o hospedeiro alternativo de forma semelhante àquela proveniente da criação *in vivo*, evidenciando que a dieta artificial foi adequada e provavelmente não provocou qualquer alteração morfológica ou estrutural dos parasitóides.

Poucos são os casos em que a qualidade desses insetos foi comparada com de indivíduos criados *in vivo*. Na maioria dos casos, as avaliações da qualidade desses parasitóides foram realizadas com a utilização de indivíduos da primeira geração obtidos em dietas artificiais.

Este trabalho é o primeiro registro da criação de *T. atopovirilia in vitro* e, mais uma vez demonstra a potencialidade da técnica de criação *in vitro* no Brasil para parasitóides de ovos. Foi um trabalho em que se testaram dietas já existentes para espécies neotropicais que ocorrem no Brasil. Para *T. atopovirilia*, deverão ser feitos ajustes futuros, envolvendo estudos fisiológicos, morfológicos de ultra-estrutura, nutricionais, histoquímicos, bioquímicos e moleculares para que a criação *in vitro* passe a ser feita de forma rotineira em laboratórios de criação.

Para *T. annulata* e *T. bruni*, deverão ser testados outros componentes de insetos (holotecidos pupais), iniciando-se com a dos hospedeiros relacionados a estas espécies. De qualquer forma, trata-se também da primeira tentativa de criação *in vitro* do gênero *Trichogrammatoidea*.

## 6.4 Conclusões

- 1) Fêmeas de *Trichogrammatoidea annulata* De Santis, 1972, *Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983 e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 realizam postura no “ovo” artificial contendo holotecidos pupais de *Diatraea saccharalis* ou de *Heliothis virescens*, com acentuada preferência pela segunda espécie;
- 2) A dieta padrão composta de holotecidos pupais de *D. saccharalis* (65%), gema de ovo (18%), soro fetal bovino (8,5%), hidrolisado de lactoalbumina (8,5%) e anticontaminantes (0,3%) permitiu a oviposição de *T. annulata*, *T. bruni* e *T. atopovirilia*;
- 3) É possível a criação *in vitro* de *T. atopovirilia*, desde o parasitismo até a emergência dos adultos numa dieta artificial semelhante à padrão, substituindo-se o holotecido pupal de *D. saccharalis* pelo de *H. virescens* (dieta modificada);
- 4) Esta dieta modificada não possibilita o desenvolvimento de *T. annulata* e *T. bruni*;
- 5) Atestando a adequação da dieta artificial, insetos da espécie *T. atopovirilia* criados *in vitro*, quando transferidos para ovos do hospedeiro alternativo, na geração F1, apresentaram características semelhantes aos insetos criados *in vivo*.

## Referências

COMINS; H.N., WELLINGS, P.W. Density-related parasitoid sex ratio: Influence on host-parasitoid dynamics. **Journal Animal Ecology**, Oxford, v. 54, p. 583-594, 1985.

CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J.R.P. Biology of *Trichogramma galloi* and *T. pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared *in vitro* and *in vivo*. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 89, p. 828-834, 1996.

\_\_\_\_\_. Produção ‘*in vitro*’ de parasitóides: criação de *Trichogramma galloi* e *T. pretiosum* no Brasil. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: Fealq, 1997a. cap. 10, p. 259-302.

\_\_\_\_\_. Development of an oligidic diet for *in vitro* rearing of *Trichogramma galloi* Zucchi and *Trichogramma pretiosum* Riley. **Biological Control**, Oxford, v. 8, p. 172-176, 1997b.

\_\_\_\_\_. *In vitro* rearing of parasitoids: constraints and perspectives. **Trends in Entomology**, London, v. 2, p. 19-32, 1999a.

- \_\_\_\_\_. Development of an artificial host egg for *in vitro* egg laying of *Trichogramma galloi* and *T. pretiosum* using plastic membranes. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 91, p. 327-336, 1999b.
- \_\_\_\_\_. Egg Laying and Development of Different Strains of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in Artificial Eggs. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 28, p. 173-177, 1999c.
- \_\_\_\_\_. Effect of the age of the pupal holotissues on the nutritional quality of artificial diets for *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 29, p. 555-563, 2000.
- \_\_\_\_\_. Criação *in vitro* de parasitóides e predadores In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil, parasitóides e predadores**. Barueri: Manole, 2002. cap. 15, p. 249-271.
- DAHLAN, A.N.; GORDH, G. Development of *Trichogramma australicum* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in eggs of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) and in artificial diet. **Australian Journal Entomology**, Ontario, v. 37, p. 254-264, 1998.
- GRENIER, S. Desenvolvimento e produção *in vitro* de *Trichogramma*. In. PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.) **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: Fealq, 1997. cap. 9, p. 235-258.
- HESLIN, L.M., KOPITTKER, R.A., MERRITT, D.J. The role of insect cell lines in an artificial diet for the parasitoid wasp, *Trichogramma pretiosum*. **Biological Control**, Oxford, v. 33, p. 186-193, 2005a.
- \_\_\_\_\_. Refinement of a cell line based artificial diet for rearing the parasitoid wasp, *Trichogramma pretiosum*. **Biological Control**, Oxford, v. 33, p. 278-285, 2005b.
- LI, L.Y. *In vitro* rearing of parasitoids of insects pests in China. Korean. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 31, p. 241-246, 1992.
- MAGRO, S.R.; PARRA, J.R.P. Comparison of artificial diets for rearing *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae). **Biological Control**, Oxford, v. 29, p. 341-347, 2004.
- MOLINA, R.M.S.; FRONZA, V.; PARRA, J.R.P. Seleção de *Trichogramma* spp., para o controle de *Ecdyolopha aurantiana* com base na biologia e exigências térmicas. **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v. 49, p. 151-158, 2005.
- NETTLES, W.C.; Jr.; MORRISON, R.K.; XIE, Z.N.; BALL, D.; SHENKIR, C.A.; VINSON, S.B. Effect of artificial diet media, glucose, proteis hydrolyzates and other factors on oviposition in wax eggs by *Trichogramma pretiosum*. **Entomologi Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 38, p. 121-129, 1985.

NORDLUND, D.A.; WU, Z.X.; GREENBERG, S.M. *In vitro* rearing of *Trichogramma minutum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) for ten generations, with quality assessment comparisons of *in vitro* and *in vivo* rearing adults. **Biological Control**, Oxford, v. 9, p. 201-207, 1997.

NOTARTE, A., MERRITT, D.J. Successful *in vitro* rearing of *Trichogramma australicum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on artificial diets containing cultured insect cells. **Bulletin of the Entomological Research**, Washington, v. 91, p. 227-229. 2001.

PARRA, J. R. P., CÔNSOLI, F.L. *In vitro* rearing of *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 44, p. 407-409, 1992.

PARRA, J.R.P. O Controle Biológico Aplicado e o Manejo Integrado de Pragas. In: SIMPÓSIO DE AGRICULTURA ECOLÓGICA 1, 1993. **Anais...**Campinas: Fundação Cargill., 1993. p.116-139.

PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, A.R. Uso de *Trichogramma* no controle de pragas. In: NAKANO, O.; SILVEIRA-NETO, S.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, A.R. (Ed.). **Atualização sobre métodos de controle de pragas**. Piracicaba: Fealq, 1986. p. 54-75.

\_\_\_\_\_. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: Fealq, 1997. cap. 4, p. 121-150.

PARRA, J.R.P.; MISHFELDT, L.H. Comparison of artificial diets for rearing the sugarcane borer. In: ANDERSON, T.E.; LEPPLA, N.C. (Ed.). **Advances in insect rearing for research and pest management**. Colorado: Westview Press, 1992. 195-209.

SHAPIRO, M.; IGNOFFO, C.M. Growth of *Heliothis zea* (Lepidoptera: Noctuidae) cells adapted to various culture media. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 66, p. 270-273, 1973.

STRAND, M.R.; VINSON, S.B. *In vitro* culture of *Trichogramma pretiosum* on an artificial medium. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 39, p. 203-209, 1985.

THOMPSON, S.N. Nutrition and culture of entomophagous insects. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 44, p. 561-592, 1999.

VAN LENTEREN, J.C. Need for quality control of mass-produced biological control agents. In: VAN LENTEREN, J.C. (Ed). **Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures**. Cambridge, 2003. p. 1-18.

XIE, Z.N.; NETTLES Jr, W.C.; MORRISON, R.K.; IRIE, K.; VINSON, S.B. Three methods for the *in vitro* culture of *Trichogramma pretiosum* Riley. **Journal Entomological Science**, Tifton, v. 21, p. 133-138, 1986.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)



[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)