UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CAMPUS DE JABOTICABAL

DESEMPENHO BIOLÓGICO DE INDIVÍDUOS SOLITÁRIOS E GREGÁRIOS DE *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hym.: Trichogrammatidae) EM DIFERENTES DENSIDADES DO HOSPEDEIRO *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1866) (Lep.: Pyralidae)

Warner Gasparini Cardoso

Engenheiro Agrônomo

2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CAMPUS DE JABOTICABAL

DESEMPENHO BIOLÓGICO DE INDIVÍDUOS SOLITÁRIOS E GREGÁRIOS DE *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hym.: Trichogrammatidae) EM DIFERENTES DENSIDADES DO HOSPEDEIRO *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1866) (Lep.: Pyralidae)

Warner Gasparini Cardoso

Orientador: Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Entomologia Agrícola)

2016

Cardoso, Warner Gasparini
C268d Desempenho biológico de indivíduos solitários e gregários de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hym.: Trichogrammatidae) em diferentes densidades do hospedeiro *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1866) (Lep.: Pyralidae) / Warner Gasparini Cardoso. – – Jaboticabal, 2016
x, 47 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016
Orientador: Sergio Antonio De Bortoli
Banca examinadora: Ricardo Antonio Polanczyk, Ana Carolina Pires Veiga
Bibliografia

1. Controle de qualidade. 2. Desenvolvimento gregário. 3. Hospedeiro alternativo. 4. Parasitoides de ovos. 5. Produção massal. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 595.79:632.937

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: DESEMPENHO BIOLÓGICO DE INDIVÍDUOS SOLITÁRIOS E GREGÁRIOS DE *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (HYM.: TRICHOGRAMMATIDAE) EM DIFERENTES DENSIDADES DO HOSPEDEIRO *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1866) (LEP.: PYRALIDAE)

AUTOR: WARNER GASPARINI CARDOSO
ORIENTADOR: SERGIO ANTONIO DE BORTOLI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA (ENTOMOLOGIA AGRÍCOLA), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. SERGIO ANTONIO DE BORTOLI
Departamento de Fitossanidade / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Prof. Dr. RICARDO ANTONIO POLANCZYK
Departamento de Fitossanidade / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Pesquisadora Dra. ANA CAROLINA PIRES VEIGA
Fundo de Defesa da Citricultura / Araraquara/SP

Jaboticabal, 11 de outubro de 2016.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

WARNER GASPARINI CARDOSO – nascido na cidade de Bebedouro, SP, em 16 de setembro de 1985. Formado em Agronomia pela Fundação Educacional de Ituiutaba – Universidade do Estado de Minas Gerais, FEIT/UEMG, localizada na cidade de Ituiutaba, MG, em dezembro de 2008. Durante a graduação, iniciou na pesquisa científica a convite de sua professora de Biologia, trabalhando com os efeitos de plantas tóxicas na mortalidade de artrópodes como escorpiões. No ano seguinte, direcionou seus trabalhos de pesquisa com sua professora de Olericultura, que o indicou para uma bolsa de iniciação científica do Conselho de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, e desenvolveram trabalhos com os temas: condução da cultura do quiabeiro com manejo orgânico de cultivo, levantamento de pragas e doenças, bem como a preservação de inimigos naturais das pragas com a aplicação de preparados a base de nim, e seus reflexos na produtividade da cultura em ciclo normal e pós-poda. Foram publicados resumos dos trabalhos em anais de eventos nacionais, como o 46.º Congresso Brasileiro de Olericultura, em Goiânia, GO, no ano de 2006, e também a apresentação oral do trabalho feita no 1.º Seminário de Iniciação Científica CNPq/UEMG naquele mesmo ano, em Belo Horizonte, MG. Em 2008 foi selecionado para participar do VI Curso de Verão em Entomologia promovido pela Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, campus de Ribeirão Preto, SP. Em julho de 2013, acompanhou os trabalhos de biologia e manejo de criações de *Trichogramma* spp. no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, FCAV/Unesp, campus de Jaboticabal, SP. Ingressou no programa de Mestrado em Agronomia com ênfase em Entomologia Agrícola do Departamento de Fitossanidade, naquela mesma instituição, em março de 2014. Foi bolsista da CAPES durante o mestrado e participou de eventos como o XXV Congresso Brasileiro de Entomologia, em Goiânia, em 2014, e o III Congresso Brasileiro de Fitossanidade, em Águas de Lindóia, SP, em 2015, onde expos alguns dos trabalhos com *Trichogramma* spp. Ministrou palestras em mini-cursos no VIII, IX e X Curso de Inverno em Entomologia Agrícola do Departamento de Fitossanidade da FCAV/Unesp, Jaboticabal, SP, além de palestras em aulas da disciplina Biologia dos Insetos do Curso de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) dessa mesma instituição.

“As grandes ideias surgem da observação dos pequenos detalhes”.

(Augusto Cury)

Dedicatória

Dedico esta dissertação a minha amada família: meus pais, Maria Isabel e Warner, e minhas irmãs, Luciana, Cassiana, Fabiana e Tatiana, que tiveram fé, confiança e me deram amparo durante todo o percurso. A Deus dou graças pelo privilégio de ter minha família.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, campus de Jaboticabal, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) pela oportunidade de realização do curso de Mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Professor Dr. Sergio Antonio De Bortoli, pela amizade, orientação e pela sabedoria que me permitiu aprender, com meus erros durante este percurso, contribuindo, para assim, tornar-me um ser melhor.

À pesquisadora e amiga Dra. Alessandra Marieli Vacari pelas importantes opiniões e auxílio durante o desenvolvimento desta pesquisa.

Àо pesquisador e amigo Dr. Claudio Antonio Salas Figueroa pelos conhecimentos transmitidos, incentivo, e encorajamento para a realização desta pesquisa.

Aos muitos estagiários, mestrandos e doutorandos do LBCI: Meus amigos: Amanda Aparecida Fernandes Lemes, Caio César Truzi, Caroline Placidi De Bortoli, Dagmara Gomes Ramalho, Gustavo de Oliveira Magalhães, Maicon Douglas Rocha, Nathália Alves dos Santos, Natália Fernanda Vieira, Rafael Ferreira dos Santos, Thamiris Porto Sipriano, Valéria Lucas de Laurentis, Vanessa Fabíola Pereira de Carvalho e Wanderlei Dibelli pelo apoio, ajuda, companheirismo, além das descontrações que nos garantiram muitos sorrisos.

Ao professor Dr. Guilherme Duarte Rossi pelas revisões e apontamentos no projeto de pesquisa.

Aos professores Dr. Ricardo Antonio Polanczyk e a Dra. Ana Carolina Pires Veiga, por comporem a minha banca de Mestrado, além dos apontamentos na escrita, opiniões sobre o tema e críticas essências, contribuindo a sua melhoria.

A todos gostaria de expressar o meu muito obrigado!

SUMÁRIO

Página

RESUMO ..... **iii**

ABSTRACT ..... **iv**

1. INTRODUÇÃO **1**

2. OBJETIVOS **2**

2.1 Geral **2**

2.2 Específicos **2**

3. REVISÃO DE LITERATURA **3**

3.1 O controle biológico aplicado e o contexto atual **3**

3.2 Insetos parasitoides de ovos e sua utilização no controle biológico aplicado **6**

3.3 Aspectos morfológicos e biológicos de parasitoides do gênero *Trichogramma* . **7**

3.4 Emergência de indivíduos gregários e solitários, e suas implicações nas criações massais **12**

3.5 O hospedeiro alternativo *Corcyra cephalonica* **14**

4. MATERIAL E MÉTODOS **16**

4.1 Criação do hospedeiro alternativo *Corcyra cephalonica* **16**

4.2 Criação do parasitoide *Trichogramma pretiosum* **18**

4.3 Bioensaios com diferentes densidades de ovos para uma fêmea de *Trichogramma pretiosum* em diferentes idades **21**

4.4 Bioensaios com descendentes solitários e gregários de *Trichogramma pretiosum* **23**

4.6 Determinação de características morfométricas dos descendentes solitários e gregários **25**

4.7 Análise dos dados **26**

5. RESULTADOS **28**

5.1 Desempenho de parasitismo de uma fêmea de *Trichogramma pretiosum* em diferentes idades e em diferentes densidades de ovos de *Corcyra cephalonica* ... **28**

5.2 Emergência de adultos em ovos parasitados por uma fêmea de *Trichogramma pretiosum* em diferentes idades e densidades de ovos de *Corcyra cephalonica* ... **29**

5.3 Porcentagens de emergência de indivíduos solitários e gregários após o parasitismo em diferentes idades de *Trichogramma pretiosum* em ovos de *Corcyra cephalonica* **30**

5.4 Emergência de indivíduos solitários e gregários após o parasitismo de fêmeas de *Trichogramma pretiosum* em diferentes densidades de ovos de *Corcyra cephalonica* **31**

5.5 Parasitismo e emergência de indivíduos solitários e gregários de *Trichogramma pretiosum* em ovos de *Corcyra cephalonica* **32**

5.6 Longevidade de indivíduos solitários e gregários de *Trichogramma pretiosum* em ovos de *Corcyra cephalonica* **33**

5.7 Determinação de características morfométricas dos descendentes solitários e gregários **34**

6. DISCUSSÃO **36**

7. CONCLUSÃO **40**

8. REFERÊNCIAS **41**

DESEMPENHO BIOLÓGICO DE INDIVÍDUOS SOLITÁRIOS E GREGÁRIOS DE *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hym.: Trichogrammatidae) EM DIFERENTES DENSIDADES DO HOSPEDEIRO *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1866) (Lep.: Pyralidae)

RESUMO – Este estudo objetivou determinar a influência de diferentes razões de número de ovos de *Corcyra cephalonica*, no desenvolvimento gregário e solitário de *Trichogramma pretiosum*, bem como avaliar os desempenhos biológicos e morfométricos de insetos que se desenvolveram de forma solitária e gregária. Foram oferecidas a uma fêmea de *T. pretiosum,* quatro diferentes densidades de ovos do hospedeiro alternativo *C. cephalonica* separadamente (5, 10, 20 e 30) por três dias consecutivos (dias 1, 2 e 3). Colocou-se uma fêmea, em tubo cilíndrico de fundo chato (8 cm × 2 cm), em contato com uma cartela contendo ovos do hospedeiro e uma gotícula de mel como alimento. A cartela foi trocada diariamente até a fêmea completar o terceiro dia de vida. Foram avaliadas as porcentagens de parasitismo, emergência de ovos parasitados, e o número de adultos emergidos por ovo, para cada uma das densidades. Em outra etapa, foram realizados testes com os descendentes de *T. pretiosum* provenientes da emergência de adultos solitários e gregários. Foi oferecido um único ovo hospedeiro exposto à oviposição por 1 dia, para uma única fêmea parasitoide, e individualizado em tubo de plástico (7,5 cm × 1 cm) contendo uma gotícula de mel. Foram avaliadas as porcentagens de parasitismo, de emergência e a longevidade de adultos, além de parâmetros morfométricos dos descendentes gregários e solitários. A relação mais baixa de hospedeiros apresentou 90% de ovos parasitados com a fêmea na idade de um dia, sendo que 68,7% destes emergiram. O desenvolvimento de até dois indivíduos por ovo hospedeiro foi observado em todas as densidades durante os três dias de oferta de ovos, sendo que a emergência de um indivíduo foi predominante. Adultos que emergiram solitários parasitam 20,5% a mais que gregários e a longevidade de ambos não diferiu significativamente. O tamanho do corpo e da tíbia posterior diferiu significativamente, sendo 0,09 mm e 0,03 mm respectivamente, sendo maiores em adultos solitários. Das diferentes densidades de hospedeiros, foi possível obter significativamente, na menor razão, mais adultos emergindo de um ovo de *C. cephalonica*, com os mesmos apresentando desempenhos biológicos e morfométricos diferenciados. Ressalta-se que essa condição pode ser negativa nas criações massais que utilizem esse hospedeiro alternativo, visto que efeitos antagônicos podem se apresentar às necessidades das biofábricas em produzir parasitoides com características biológicas efetivas em garantir o sucesso de programas de controle biológico inundativos.

Palavras-chave: controle de qualidade, desenvolvimento gregário, hospedeiro alternativo, parasitoide de ovos, produção massal

BIOLOGICAL PERFORMANCE OF SOLITARY AND GREGARIOUS *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hym.: Trichogrammatidae) AT DIFERENT DENSITIES OF THE HOST *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1866) (Lep.: Pyralidae)

ABSTRACT – This study aimed to determine the influence of different reasons of *Corcyra cephalonica* eggs, in gregarious and solitary development of *Trichogramma pretiosum* and evaluate the biological and morphometric performances of these. We were offered to one female parasitoids, four different densities of eggs of the factitious host *C. cephalonica* (5, 10, 20 and 30) for three days consecutive (days 1, 2 and 3). The female was placed in cylindrical tube (8 cm × 2 cm) in contact with a paperboard containing eggs of the host and a droplet of honey as food. This paperback was changed daily until the female complete the third day of life. The parasitism were evaluated, emergency of parasitized eggs and the number of emerged adults per egg for each offered densities. In another step, tests were performed with the descendants of parasitoids from the emergency solitary and gregarious adults. A single host egg oviposition exposed for one day in individual plastic tubing (7.5 cm × 1 cm) having a honey drop offered. The parasitism were evaluated, emergency and longevity of adults, and morphometric parameters of gregarious and solitaries progenies. The lower ratio hosts showed 90% of parasitized eggs with the female at the age of one day, and 68.7% of these have emerged. The development up two individuals per egg host was observed in all densities during the three-day supply of eggs, and the emergence of one individual was predominant. Adults emerging from solitary parasitize 20.5% more than gregarious and longevity of both did not differ significantly. The body size and the last posterior left tibia was significantly different, being 0.09 mm and 0.03 mm, respectively, higher in solitary adults. Host of different densities, it was possible to significantly lower the ratio, the more adults emerging from an egg *C. cephalonica*, with the same biological and morphometric having different performances. It is emphasized that this condition may be negative in mass rearing at mass rearing labs using such alternative host, as antagonistic effects may present the needs of biofactories to produce parasitoids with effective biological characteristics to ensure the success of inundative biological control programs.

Keywords: quality control, gregarious development, factitious host, egg parasitoids, mass production

1. INTRODUÇÃO

A produção massal de parasitoides para uso em programas de controle biológico de pragas na agricultura é uma realidade brasileira, no entanto, o aprimoramento constante da qualidade na produção desses inimigos naturais se faz necessário para o incremento das atividades desses empreendimentos.

São atualmente contabilizadas vinte e uma empresas produzindo espécies parasitoides no Brasil. Especificamente *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) tem sido comercializada para o controle de lepidópteros-praga em cultivos de milho, soja, sorgo, algodão, feijão, citros, melão, abacate, mandioca e hortaliças (PARRA, 2016).

É comum a observação em criações massais de *Trichogramma* a emergência de indivíduos de tamanhos variáveis, fato este relacionado a uma característica natural da espécie, em que a fêmea aloca seus ovos no hospedeiro, de modo que o desenvolvimento gregário da prole poderá ser favorecido, dependendo de diversos fatores como o volume do ovo, os nutrientes presentes no vitelo, a competição da prole por recursos com seus coespecíficos e irmãos (SCHMIDT; SMITH, 1985). Kfir (1981) cita que baixas densidades de hospedeiros disponíveis para uma alta quantidade de fêmeas em criações massais, pode levar a essa condição de desenvolvimento gregário e consequentemente, a emergência de mais de um adulto, podendo estes apresentar, como por exemplo, emergência, fecundidade, taxas de parasitismo, e longevidade diferenciadas daqueles que emergem solitários, causa esta que muitas das vezes não é levada em conta nos manejos de criações para pesquisas ou liberações inundativas.

Estudos sobre a influência do desenvolvimento gregário nas características biológicas de trichogrammatídeos são escassos em hospedeiros alternativos comumente utilizados nas biofábricas, como a mariposa *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1866) (Lepidoptera: Pyralidae) sendo, portanto, de grande relevância determinar a eficiência de parâmetros biológicos dos indivíduos oriundos do desenvolvimento gregário, de forma a melhorar os atuais sistemas de produção.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Determinar a influência do desenvolvimento gregário nas alterações biológicas e morfológicas de um trichogrammatídeo em condições de laboratório.

2.2 Específicos

Estudar a influência de diferentes razões de ovos do hospedeiro *C. cephalonica* na ocorrência do desenvolvimento gregário em hospedeiros parasitados por fêmeas de *T. pretiosum* em diferentes idades.

Identificar performances biológicas e diferenciação morfológica dos descendentes oriundos de casos gregários em relação àqueles que emergiram solitários.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 O controle biológico aplicado e o contexto atual

O controle biológico aplicado, consiste no uso de organismos biológicos, tais como predadores, parasitoides e patógenos, para o controle de pragas agrícolas, sendo uma ferramenta importantíssima no Manejo Integrado de Pragas (MIP) (LACEY et al., 2001; GHOSH; GROGNARD; MAILLERET, 2015). Dentre as táticas usadas neste tipo de controle, o uso de insetos para combater outros insetos é uma estratégia antiga, porém com o uso ainda limitado em boa parte do mundo, devido especialmente ao uso massivo de agrotóxicos químicos (BUENO et al., 2011; PARRA, 2014).

Desde o terceiro século, os chineses têm usado formigas para controlar pragas dos citros (*Citrus* spp.). Apesar disso, o controle biológico aplicado teve o seu início efetivamente considerado em 1888, quando uma joaninha da Austrália, *Rodolia cardinalis* (Mulsant, 1850) (Coleoptera: Coccinelidade), foi introduzida para controlar *Icerya purchasi* Maskell, 1878 (Hemiptera: Monophlebidae), uma cochonilha infestante de plantas frutíferas nos Estados Unidos. Este foi o início do controle biológico como conhecemos atualmente, e que consagrou a Califórnia como o local de nascimento deste método de controle, com o trabalho de entomologistas da Universidade da Califórnia, “campi” de Berkeley e de Riverside (PARRA, 2014).

No Brasil, em 1921, trinta e três anos após o primeiro caso de sucesso do controle biológico aplicado, o primeiro inimigo natural foi importado dos Estados Unidos como parte dos esforços para o controle da cochonilha branca do pêssego *Pseudaulacaspis pentagonal* (Targioni, 1886) (Hemiptera: Diaspididae) com o uso de *Encarsia berlesei* Howard, 1906 (Hymenoptera: Aphelinidae), mas infelizmente foi reportado como um caso sem sucesso (PARRA, 2014).

Apesar de todo o progresso do controle biológico, o uso do controle químico prevaleceu, e chegou ao pico com a síntese do DDT, o primeiro inseticida sintético criado em 1939, prevalecendo o uso massivo dos inseticidas até o início dos anos 1960 (PARRA, 2014).

A Entomologia Agrícola no Brasil começou com uma forte influência do uso de agrotóxicos, e desde então, a aplicação desses produtos tem sido amplamente aceita e adotada por agricultores. O crescimento da produção agrícola no Brasil se dava basicamente até a década de 50 pela expansão da área cultivada e, a partir da década de 60, o uso de máquinas e produtos químicos passou a ter grande importância no aumento da produção agrícola, de acordo com os parâmetros da “Revolução Verde” que incorporou um pacote tecnológico à agricultura, tendo essas mudanças técnicas passadas a serem conhecidas como a “modernização da agricultura brasileira” (AGRA; SANTOS, 2001; PARRA, 2014).

A chamada “Era negra do controle de pragas” de 1940 a 1960 motivou a comunidade científica a propor uma nova filosofia do controle de pragas, baseado não apenas no econômico, mas também em considerações ecológicas e sociais (KOGAN, 1998). Em 1962, Rachel Carson publicou “Primavera Silenciosa”, alertando sobre os problemas associados com o uso abusivo de agrotóxicos, e como resultado, melhorou a conscientização em relação aos problemas relacionados ao uso indiscriminado dos “pesticidas”, incluindo desequilíbrios ecológicos, desenvolvimento de insetos e ácaros resistentes a agroquímicos, além do surgimento de pragas secundárias, ressurgimento de pragas, efeitos nocivos a seres humanos, inimigos naturais de pragas e organismos não-alvo, resíduos dos agroquímicos em alimentos, água e solo (PARRA, 2014).

Nos últimos anos, a crescente demanda por tecnologias que valorizem a preservação dos recursos do ambiente tem crescido em todo o mundo, bem como a necessidade de produzir alimentos de maior valor biológico e mínima quantidade de resíduos de agrotóxicos. O uso de agrotóxicos passou por grande evolução, com o surgimento de muitas moléculas novas com características físico-químicas que propiciam funcionalidades diferenciadas e comportamentos ambientais distintos, com grandes alterações nos perfis toxicológicos e ecotoxicológicos (ARMAS et al., 2005; SOUZA, 2006; PARRA, 2014).

Neste contexto também surgiu o Manejo Integrado de Pragas (MIP), como resposta da comunidade científica para tentar resolver problemas que se originaram do uso abusivo de agroquímicos. O MIP pode ser definido como uma combinação de táticas de controle com o objetivo de manter as populações de pragas em densidades

abaixo dos níveis de danos econômicos, levando em conta critérios econômicos, ecológicos e sociais. Tais táticas de controle de pragas incluem: o controle cultural, o controle comportamental (por exemplo, feromônios), a resistência de plantas a insetos, químicos, além de, mais recentemente, variedades transgênicas. Também inclui o próprio controle biológico, que ocupa uma importante posição, uma vez que inimigos naturais são responsáveis pelo balanço populacional nos agroecossistemas e ao redor deles (SOUZA, 2006).

Esses organismos benéficos podem serem usados de diferentes formas em programas de controle biológico. Suas populações, sempre que possível, devem ser mantidas ou aumentadas na natureza por introduções inundativas e/ou inoculativas (van LENTEREN, 2009; PARRA, 2014).

No controle biológico inoculativo os organismos benéficos são coletados e somente um número limitado são introduzidos/liberados na área onde se pretende controlar a praga, tendo como objetivo a supressão, a longo prazo, da população da praga, sendo mais utilizado para pragas introduzidas, as quais se presume terem chegado a uma nova área sem os seus inimigos naturais. Já o controle biológico inundativo, é definido como organismos benéficos nativos que são criados em grandes quantidades em laboratório e periodicamente liberados em grande número para obter um efeito de controle imediato por uma ou duas gerações. Como exemplo, cita-se a liberação dos parasitoides de ovos (microhimenópteros) *Trichogramma/Telenomus* para o controle de algumas pragas agrícolas (van LENTEREN, 2009). Este mesmo autor, destaca também os riscos da importação de inimigos naturais para novas áreas de exploração. Avaliações devem ser feitas rigorosamente para que um organismo introduzido exótico não escape para uma nova região, evitando problemas nos ecossistemas como: ataque a organismos benéficos (não alvos), tais como os polinizadores e outros inimigos naturais, insetos raros ou ameaçados, e outros organismos não visados.

3.2 Insetos parasitoides de ovos e sua utilização no controle biológico aplicado

Insetos parasitoides são sempre associados quando se faz referência a controle biológico, existindo inúmeras famílias que atacam diversos estágios de desenvolvimento de outros insetos. Parasitoides idiobiontes, aqueles que parasitam ovos de outros insetos, são interessantes do ponto de vista do controle de pragas, por impedirem a progressão da praga ainda em ovo e, consequentemente, evitam que causem prejuízos antecipadamente às culturas (PARRA; CÔNSOLI, 2009).

Dentre as espécies parasitoides, *T. pretiosum* é uma das mais utilizadas comercialmente para o uso no controle biológico no Brasil (PARRA, 2014). Esta é uma espécie idiobionte, parasitam ovos de insetos das ordens Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Hymenoptera, Lepidoptera, Thysanoptera e Neuroptera (MONNERAT et al., 2007; CARVALHO et al., 2014; AMARO et al., 2015; NOYES, 2016).

A utilização de vespas do gênero *Trichogramma* é um método sustentável e ecológico e tem sido usado efetivamente no controle de diversas pragas. Parra (2016) cita que 60,000 ha de lavouras são tratados com a espécie *T. pretiosum* para o controle de lepidópteros-praga nas culturas de milho, soja, sorgo, algodão, feijão, citros, melão, abacate, mandioca e hortaliças, e 550,000 ha com a espécie *T. galloi* Zucchi, 1988, em cana-de-açúcar para o controle de *Diatraeae saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae).

Na Índia, *Trichogramma* é utilizado para o controle de *Helicoverpa* sp. (Lepidoptera: Noctuidae), nas culturas do tomate, quiabo e pimenta; na China, são 4 milhões de ha de milho tratados com *T. dendrolimi* Matsumura, 1926, *T.* chilonis Ishii, 1941 e *T. ostriniae* Pang & Chen, 1974. Na Alemanha, *T. brassicae* Bezdenko, 1968 é usado para combater a broca do milho *Ostrinia nubilalis* (Hübner, 1796) (Lepidoptera: Crambidae) em 11,000 ha, *T. cacaeciae* Marchal, 1927 e *T. dendrolimi* são usados no combate das mariposas *Cydia pomonella* L., 1758 (Lepidoptera: Tortricidae) e *Grapholita funebrana* Treits, 1835 (Lepidoptera: Tortricidae) em frutíferas (BLATT et al., 2016).

A família Trichogrammatidae é uma das 23 famílias atualmente agrupadas na superfamília Chalcidoidea. No mundo chegam a aproximadamente 839 espécies em

83 gêneros. No Brasil são conhecidas 26 espécies do gênero *Trichogramma*, correspondendo ao mais amplo número de espécies entre os países da América do Sul (NOYES, 2016; QUERINO; SILVA; ZUCCHI, 2016).

O conhecimento da diversidade local é de fundamental importância para a manutenção e conservação dos parasitoides nativos. Os níveis de parasitismo natural por *Trichogramma* nos agroecossistemas são relativamente altos. A preferência do habitat por *Trichogramma* é outro ponto importante da espécie a ser considerado no controle biológico. Assim, a utilização e a identificação correta de espécies são pontos importantes para o sucesso no controle biológico com *Trichogramma* (QUERINO; ZUCCHI, 2011) (Figura 1).

Figura 1. Faixas intercaladas com plantio de fanerógamas ajudam a abrigar e estabelecer parasitoides nos campos.

Fonte: Google imagens... (2016).

3.3 Aspectos morfológicos e biológicos de parasitoides do gênero *Trichogramma*

A identificação correta das espécies é o primeiro passo para o sucesso de um programa de controle biológico, sendo que a identificação de espécies de

Trichogramma é descrita como sendo uma tarefa difícil, requerendo tempo e habilidades especializadas (PINTO; STOUTHAMMER, 1994; PINTO, 1997).

Inicialmente, os caracteres diagnósticos que diferenciam a família Trichogrammatidae de outras da superfamília Chalcidoidea, são os funículos antenais, apresentando não mais que dois segmentos (Figura 2), e os tarsos 3-segmentados (NOYES, 2016). Quanto ao dimorfismo sexual, os machos possuem nas antenas, cerdas curtas e cerdas alongadas sobre a superfície do flagelo, rígidas e apicalmente direcionadas, semelhando-se a pelos, enquanto as fêmeas são facilmente reconhecidas pela clava apical no flagelo (QUERINO; ZUCCHI, 2011) (Figura 2).

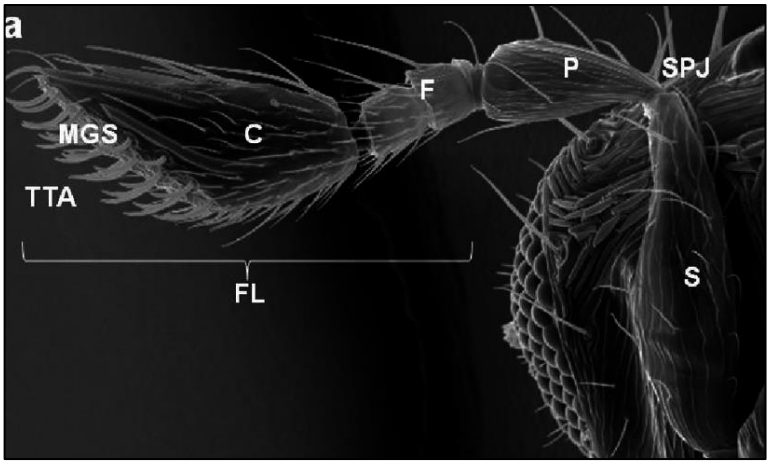

Figura 2. Apêndices diagnósticos da antena de *Trichogramma.* (S) escapo; (P) pedicelo; (F) par de funículos; (FL) flagelo antenal; (C) Clava apical.

Fonte: Google imagens... (2016).

A contagem do número de cerdas presentes nas asas é importante na descrição das espécies. A asa anterior possui cerdas nas franjas dispostas ao longo da margem póstero lateral e asa posterior é formada por três fileiras de cerdas longitudinais, sendo as fileiras anterior e posterior utilizadas na identificação de espécies (QUERINO; ZUCCHI, 2011).

O meio mais importante para a identificação a nível específico é através das estruturas anatômicas do aparelho reprodutor masculino (NAGARKATTI; NAGARAJA, 1973). A genitália masculina é composta por várias estruturas dorsais e

ventrais. Tais estruturas recebem terminologias específicas e são feitas medições das distâncias e larguras apicais e basais para a identificação (Figura 3) (QUERINO; ZUCCHI, 2011).

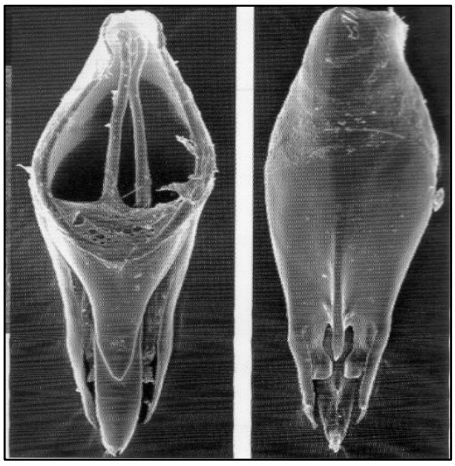

Figura 3. Fotografia eletrônica de varredura da genitália masculina de *Trichogramma.*

Fonte: (QUERINO; ZUCCHI, 2011).

Uma limitação à identificação desses insetos diz respeito às fêmeas, que não são identificáveis pela morfologia da genitália, mas apenas quando encontradas associadas a machos, e isto pode ser um problema ainda mais agravante quando se tratar de fêmeas que apresentam partenogênese telítoca irreversível, em que o representante macho não está presente, ou ainda, problemas de identificação podem ocorrer quando muitas espécies compartilham estruturas genitais similares, forçando os pesquisadores a buscarem outros meios de identificação. Uma solução para este problema é um moderno sistema de identificação baseado no sequenciamento de DNA (ALMEIDA, 2004).

Trichogrammatídeos são cosmopolitas, polífagos e compreendem diminutos insetos que medem entre 0,3 mm a 1,2 mm de comprimento (excluindo o ovipositor), ou até 1,8 mm de comprimento (incluindo o ovipositor). São holometábolos, passando o seu ciclo de vida pelos estágios de ovo, larva, pré-pupa, pupa e adulto. Os ovos possuem em média 0,1 mm de comprimento, e ao longo do desenvolvimento

embrionário podem aumentar de 5 a 6 vezes o seu tamanho próximo a eclosão das larvas, que se alimentam da massa vitelina e do embrião do hospedeiro. Ao final do desenvolvimento larval, o ovo torna-se cinza ou preto, devido a deposição de sais de uratos no córion, sendo esse estágio conhecido como de pré-pupa (Figura 4). A emergência do adulto ocorre após a abertura do orifício no córion do hospedeiro, tornando-se insetos de vida livre (GRENIER, 1994; GOULART, 2009).

Figura 4. Ovo de lepidóptero. A coloração escurecida com manchas creme evidenciam o parasitismo.

Fonte: Google imagens... (2016).

Variações na duração do ciclo de vida de *Trichogramma* são muito comuns, estando relacionadas a diferentes temperaturas e espécies de hospedeiros. A duração média do período ovo-adulto a 25°C para *T. pretiosum* parasitando ovos de *Heliothis virescens* Fabricius, 1977 (Lepidoptera: Noctuidae) foi de 10,4 dias, e em ovos de *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) foi de nove dias. Em hospedeiros comumente utilizados em criações massais para produção do parasitoide, pôde-se observar 11,8 dias em *Sitotoroga cerealella* Oliver, 1789 (Lepdoptera: Gelechiidae) 10,7 em *Anagasta* (E*phestia*) *kuehniella* Zeller, 1879 e 10,5 em *C. cephalonica* (CÔNSOLI; ROSSI; PARRA, 1999; GOULART, 2009).

Há muitas razões de grande importância para entender o modo de reprodução de Trichogrammatídeos, incluindo o fato de que algumas espécies são amplamente

usadas em programas de controle biológico inundativos. Como tal, são criados em grandes quantidades. Criar espécies sem um claro entendimento de sua reprodução pode ser um risco para os criadores de insetos de programas de controle biológico, e que, certamente, têm muito a ganhar com o acesso ao conhecimento, de modo a otimizar os sistemas de criação (BOIVIN, 2010).

A maioria dos parasitoides se reproduzem por partenogênese arrenótoca, o modo dominante de determinação sexual em Hymenoptera, onde o ovo de uma fêmea não fertilizada desenvolve em um macho haploide, enquanto o ovo de uma fêmea fertilizada desenvolve uma fêmea diploide. Logo, fêmeas não fertilizadas ficam restritas a produzir uma progênie somente de machos (BOIVIN, 2010), situação que, do ponto de vista do controle biológico, é tida como causadora de efeitos deletérios, tanto nas criações massais de laboratório, quanto nas taxas de parasitismo em campo.

Fêmeas parasitoides também se reproduzem por partenogênese telítoca, quando apenas fêmeas são produzidas. A indução de telitoquia é a modificação reprodutiva mais comum em *Trichogramma*, como resultado da simbiose com a bactéria do gênero *Wolbachia*. Fêmeas são capazes de produzir “filhas” sem cópula, e *Wolbachia* é passada para futuras gerações através de transmissão vertical de “mãe” para filha. Ovos que dariam origem a machos são mortos citoplasmaticamente como herança da infecção pela bactéria, e não passam adiante pela progênie (ALMEIDA, 2004; BOIVIN, 2010). Este modo de reprodução pode ser visto como vantajoso nos sistemas de criações massais, incrementando a velocidade de crescimento das populações, e as taxas de parasitismo no campo nas liberações inundativas de *Trichogramma*.

Outra característica reprodutiva de *Trichogramma* diz respeito à maturação de seus ovos. São chamadas fêmeas proovigênicas, aquelas que têm todos os seus ovos prontos para oviposição assim que emergem, e não produzem mais durante toda a sua vida. Por outro lado, aquelas que não tem seus ovos prontos para serem ovipositados logo que emergem, maturam eles depois ao longo da vida, são chamadas de sinovigênicas. Muitas espécies, no entanto, estão entre estes dois extremos e são chamadas de moderadamente sinovigênicas. As espécies proovigênicas são descritas como sendo de vida curta, no entanto, é importante para

a fêmea ter todos os seus ovos prontos para ovipositar ainda cedo em suas vidas (BOIVIN, 2010).

As larvas de muitas espécies parasitoides de ovos mostram um grau de simplificação, tanto no número de ínstares, quanto na sua morfologia externa. O número de ínstares reportado para a família Trichogrammatidae variam de um a cinco. Mais estudos sobre o número de ínstares larvais em Trichogrammatídeos foram realizados com mais cautela, mostrando que para o gênero *Trichogramma* existe apenas um ínstar larval, baseado no fato de que a forma e o tamanho do primeiro (e único ínstar) muda consideravelmente no início devido a grande ingestão de alimento. A larva é descrita como sendo do tipo saciforme (em forma de saco), com poucos caracteres externos e mandíbulas aparentes e diminutas (BOIVIN, 2010).

3.4 Emergência de indivíduos gregários e solitários, e suas implicações nas criações massais

Parasitoides são classificados como solitários quando apenas um indivíduo da progênie é capaz de completar seu desenvolvimento em um único hospedeiro, e gregários quando mais indivíduos completam com sucesso seu desenvolvimento em um mesmo hospedeiro (GODFRAY, 1994).

A diferença entre espécies gregárias e solitárias não está necessariamente ligada ao número de ovos deixados durante uma única oviposição. A deposição de múltiplos ovos também ocorre em espécies solitárias, no entanto, um mecanismo que regulará a mortalidade entre irmãos vai limitar o número da progênie e apenas uma vespa vai alcançar o desenvolvimento completo (ODE; ROSENHEIM, 1998).

Trichogramma são parasitoides gregários facultativos, apresentando desenvolvimento de mais de uma larva em um único ovo hospedeiro (SCHIMIDT; SMITH, 1985; BARRET; SCHMIDT, 1991; VINSON, 1997). Foi observado por Klomp e Teerink (1967) que, quando a fêmea aloca apenas um ovo, a fecundidade e longevidade são maiores. Quando muitos ovos são deixados, esta condição leva a

uma competição larval, podendo resultar no aumento da mortalidade de larvas, e a emergência de indivíduos que apresentem reduzida performance biológica.

Quando são encontrados poucos hospedeiros num mesmo ambiente, a fêmea necessita aumentar o número da progênie em cada hospedeiro encontrado, de forma a maximizar o sucesso reprodutivo. Tal estratégia irá requerer habilidades para julgar o conteúdo de nutrientes e de espaço disponível para o desenvolvimento larval de sua progênie em cada hospedeiro e, de acordo com Salt (1935), o tamanho e a forma são os critérios mais importantes usados pelas vespas para selecionar hospedeiros. Quando se tratar de hospedeiros muito pequenos, esses são geralmente rejeitados.

A avaliação do hospedeiro começa com a fêmea examinando o tamanho do ovo através de uma série de ações estereotipadas. Em contato com o hospedeiro, ela "tamborila" a superfície continuamente com suas antenas enquanto caminha por todos os lados que ela possa alcançar, até que encontre uma junção entre o córion e o oócito, e se aceito, a oviposição ocorre. Uma simples avaliação do hospedeiro é suficiente para determinar o tamanho da progênie e o ovipositor não é removido até que todos os ovos estejam alocados no hospedeiro (SCHIMIDT; SMITH, 1985).

É comum encontrar nas criações massais de laboratório, tanto para pesquisas científicas, quanto para liberações inundativas, indivíduos menores e outros mais robustos. De acordo com Salt (1940), esses indivíduos menores são formas que sofreram degeneração devido a pouca alimentação disponível em hospedeiros pequenos e também, resultado da competição de uma progênie gregária. Tais efeitos degenerativos também estão relacionados com altas densidades de parasitoides nos frascos de criações, às vezes centenas ou milhares de parasitoides são mantidos juntos em frascos superlotados, podendo resultar em redução da fecundidade, diminuição entre a proporção de fêmeas na progênie (nos casos de reprodução não telítoca) e aumento no número de indivíduos menores e enfraquecidos (KFIR, 1981).

Em ovos das espécies *A*. *(E). kuehniella* e *P*. *xylostella* é comum observar a emergência facultativa de até dois indivíduos de *Trichogramma* em criações massais de laboratório (VINSON, 1997; DOYON; BOIVIN, 2005). Em ovos de hospedeiros maiores como de *Manduca sexta* (L., 1763) (Lepidoptera: Sphingidae), *Trichogramma* pode chegar a deixar de 25 a 30 ovos (VINSON, 1997). Barret e Schmidt (1991) contabilizaram de 10 a 12 indivíduos emergindo de ovos de *M. sexta* que têm em sua

composição 94 µg de aminoácidos (8,2 µg de aminoácidos/inseto), determinando a importância da nutrição no julgamento da fêmea na alocação da progênie.

Um segundo fator que pode favorecer o desenvolvimento gregário em espécies gregárias facultativas, é o comportamento de superparasitismo. Este comportamento ocorre com a deposição de uma massa de ovos (ou um único ovo) por uma fêmea, em um hospedeiro já parasitado, podendo essa repetição do parasitismo ser feita pela mesma fêmea ou outra, e, por esta razão, o superparasitismo é o único modo de indivíduos de várias idades se desenvolverem juntos em um único hospedeiro (DORN; BECKAGE, 2007).

Estudos da influência do desenvolvimento gregário nas características biológicas de trichogramatídeos são escassos, sendo, portanto, de grande relevância determinar a eficiência de parasitismo dos indivíduos oriundos de desenvolvimento gregário, de forma a melhorar os atuais sistemas de produção massal destes parasitoides, caso ocorra a comprovação da redução da capacidade de parasitismo destes indivíduos.

3.5 O hospedeiro alternativo *Corcyra cephalonica*

Corcyra cephalonica é uma importante praga de produtos armazenados, como arroz, trigo, milho, sorgo, amendoim, sementes de algodão, café, pimentas, cacau e soja, principalmente na região dos trópicos. As larvas atacam a superfície da massa de grãos, causando danos principalmente na região do embrião, diminuindo em até 50% do peso dos grãos (PARRA, 1997; ALLOTEY; AZALEKOR, 2000).

É um dos hospedeiros alternativos mais utilizados para produção de *Trichogramma* no mundo, além das espécies *S. cerealella* e *A*. (*E*). *kuehniella*. Uma das vantagens da escolha deste hospedeiro é o baixo custo de produção, necessitando de baixo consumo de matéria-prima para sua manutenção (BERNARDI; HADDAD; PARRA, 2000).

É adequada para a produção dos parasitoides de ovos das espécies *T. galloi*, *T. bruni* Nagaraja, 1983, (Hymenoptera: Trichogrammatidae), *Telenomus remus*

Nixon, 1937 (Hymenoptera: Scelionidae) e *Bracon hebetor* Say, 1836 (Hymenoptera: Braconidae). Os ovos de *C. cephalonica* também são destinados para a alimentação de insetos predadores como *Xylocoris afer* (Reuter, 1884) (Heteroptera: Anthocoridae) e *Orius insidiosus* (Say, 1832) (Heteroptera: Anthocoridae) (GOMES, 1997; MAGRO; PARRA, 2001; POMARI, 2013; DE BORTOLI et al., 2015; VIEIRA, 2016).

Mbata (1989) mostrou que características biológicas, tais como sobrevivência, período larval, período pupal, período de desenvolvimento, peso de machos e fêmeas de *C. cephalonica* são muito variáveis com relação ao tipo de alimento e umidade relativa do ambiente, além de características físicas dos substratos como cereais inteiros, quebrados ou moídos.

Estudos biológicos foram realizados por Bernardi, Haddad e Parra (2000) para determinar a dieta mais adequada para a criação de *C. cephalonica*, destinada a produção de *Trichogramma*. Das dietas artificiais testadas, aquela que continha 97% de germe de trigo e 3% de levedura de cerveja apresentou resultados favoráveis para a criação do inseto, à temperatura e umidade relativa de 25° C e 60% respectivamente, sendo, o tempo médio de desenvolvimento de 62,7 dias com viabilidade total de ovos de 84,6%, e peso dos adultos de 15,98 mg (machos) e 33,73 mg (fêmeas). Também, atingiram a maior taxa intrínseca de aumento (0,07683), dado importante para o desenvolvimento populacional, indicando o quão bem-sucedida será a espécie em um determinado ambiente (DIAS; PARRA; DIAS, 2010).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Criação do hospedeiro alternativo *Corcyra cephalonica*

Para a montagem de uma caixa de criação feita no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos, foram utilizados 0,15 g de ovos de *C. cephalonica* distribuídos em 4 sulcos rasos feitos sobre um quilo de dieta artificial composta por germe de trigo (940 g) esterilizado a 150°C por 2 horas em estufa, e mantido a temperatura ambiente para resfriamento, e levedura de cerveja (60 g). As caixas plásticas (8,6 L) contendo a dieta possuem orifício para aeração de (15 cm × 24 cm) fechado com tecido do tipo “voil”. As caixas de criação foram dispostas em sala de criação com temperatura de 28 ± 2°C e fotoperíodo de 12 h de luz e 12 horas de escuro (Figuras 5 e 6).

Figura 5. Caixa de criação de *Corcyra cephalonica*.

Figura 6. Sala de criação de *Corcyra cephalonica.*

Aproximadamente 45 dias após a montagem das caixas ocorre a emergência dos adultos, que são retirados diariamente utilizando-se um aspirador modificado em sua extremidade de sucção, adaptado da metodologia de Volpe e Goulart (2009) (Figura 7), sendo os mesmos transferidos para gaiolas de oviposição, que

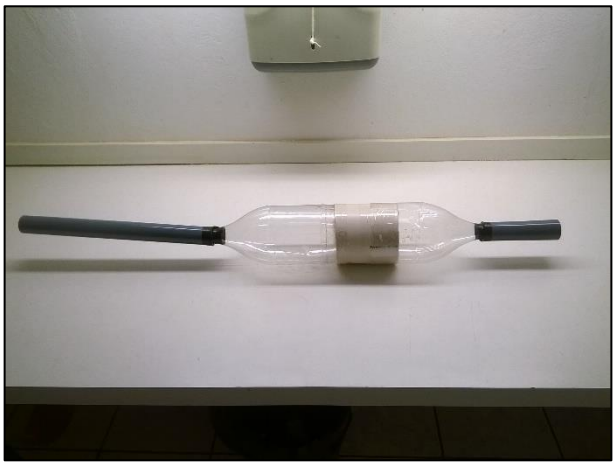

Figura 7. Recipiente colocado na extremidade de um aspirador para coleta de adultos de *Corcyra cephalonica*.

são recipientes cilíndricos de vidro (17 cm × 11 cm). No interior da gaiola é colocado um pedaço de tela sombrite para servir como substrato de oviposição (Figura 8). Os ovos foram retirados diariamente, sendo uma parte destinada a criação de *T.*

pretiosum e outra para manter a criação de *C. cephalonica*, e quando houve a necessidade de armazenamento o mesmo foi feito em refrigerador (5ºC a 8°C).

Figura 8. Gaiolas de oviposição.

4.2 Criação do parasitoide *Trichogramma pretiosum*

Os insetos utilizados neste experimento foram oriundos da criação mantida no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI) da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" – Campus de Jaboticabal. A manutenção do parasitoide foi conduzida de acordo com a metodologia de Parra (1997), modificada por Goulart (2009). A metodologia de criação de *T. pretiosum* do Laboratório de Biologia e Criação de Insetos constituiu na utilização de ovos de *C. cephalonica* que foram esparramados sobre cartelas de cartolina de coloração azul celeste (4 cm × 1 cm) previamente umedecidas com água deionizada (Figuras 9 e 10).

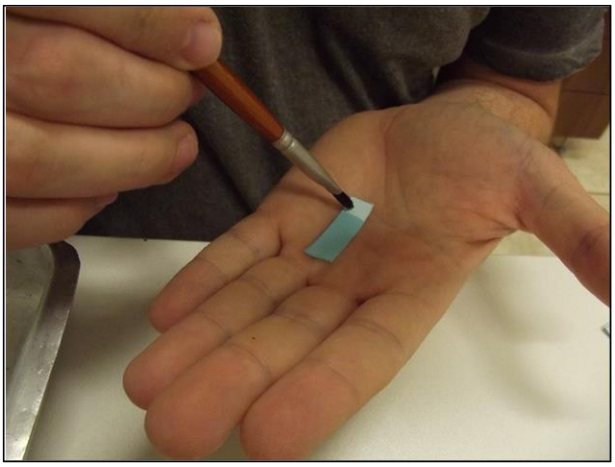

Figura 9. Cartelas umedecidas com água deionizada.

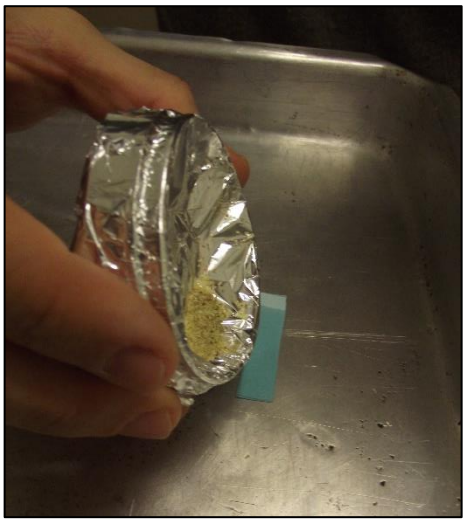

Figura 10. Ovos sendo esparramados sobre cartela umedecida.

Na parte superior das cartelas foi anotada a data de oferecimento dos ovos para o controle do tempo de desenvolvimento e a previsão da data de emergência dos adultos, além da geração da espécie *T. pretiosum* a partir do início da criação no laboratório.

Na sequência, os ovos nas cartelas foram expostos à luz germicida por 45 minutos para inviabilizar os embriões e prevenir a emergência das larvas do hospedeiro (PARRA; ZUCCHI, 1997) (Figura 11), sendo então oferecidos às fêmeas de *T. pretiosum* em tubos cilíndricos de vidro de fundo chato (8 cm × 2 cm) contendo

uma gotícula de mel (50% v/v) para a alimentação dos adultos. Os tubos foram fechados na sequência com filme plástico de PVC (Figura 12). Os frascos cilíndricos foram levados para a sala de criação, com temperatura de 25 ± 1°C, umidade relativa de 60 ± 10% e fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro.

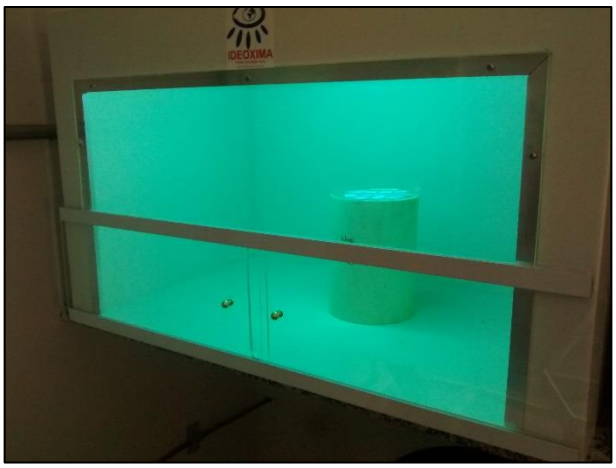

Figura 11. Cartelas com ovos na câmara de luz germicida.

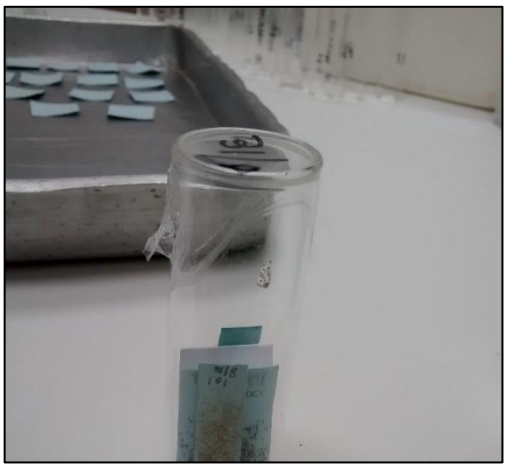

Figura 12. Frasco de vidro de criação com cartelas e mel.

4.3 Bioensaios com diferentes densidades de ovos para uma fêmea de *Trichogramma pretiosum* em diferentes idades

Foram utilizados ovos com idade de até 24 horas após a postura, e os mesmos foram colados em diferentes densidades nas cartelas de cartolina com o auxílio de um pincel, sobre uma camada de água deionizada. Para cada fêmea de *T. pretiosum*, tomadas aleatoriamente da criação de laboratório, foram oferecidas diferentes densidades de ovos (5, 10, 20 e 30) durante três dias consecutivos (dias 1, 2 e 3), que constituíram os tratamentos (Tabela 1).

Tabela 1. Tratamentos que constituíram os bioensaios com diferentes densidades de ovos para uma fêmea de *Trichogramma pretiosum* em diferentes idades.

Idade (dias)	Densidades de hospedeiros			
	5	10	20	30
1	1:5a*	1:10a	1:20a	1:30a
2	1:5b	1:10b	1:20b	1:30b
3	1:5c	1:10c	1:20c	1:30c

*As letras representam a idade da fêmea, sendo (a) = 1.º dia; (b) = 2.º dia e (c) = 3.º dia de vida.

As cartelas foram colocadas em tubos cilíndricos de vidro de fundo chato, juntamente com uma gotícula de mel para a alimentação das vespas, e foram trocadas a cada 24 horas até as fêmeas completarem o 3.º dia de vida. Ao final, os frascos foram vedados com filme plástico de PVC e foram observadas 30 repetições para cada densidade do hospedeiro e cada idade das fêmeas de *T. pretiosum* (Figura 13).

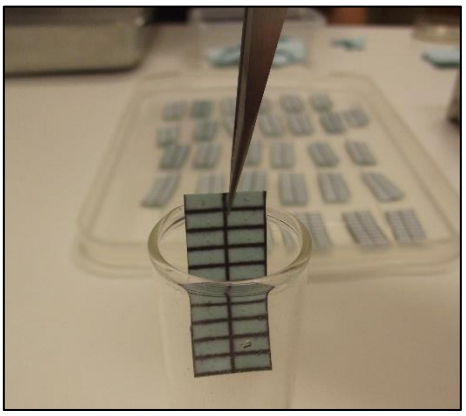

Figura 13. Cartela com vinte ovos. Um em cada espaço quadriculado.

No 4.º dia após a retirada das cartelas, quando evidenciado o parasitismo pela coloração escurecida dos ovos, os mesmos foram recortados e individualizados em tubos de Duran. Aguardou-se a emergência dos adultos até o 10.º dia após o parasitismo, sendo contabilizado o número de indivíduos emergidos por ovo (Figuras 14 e 15).

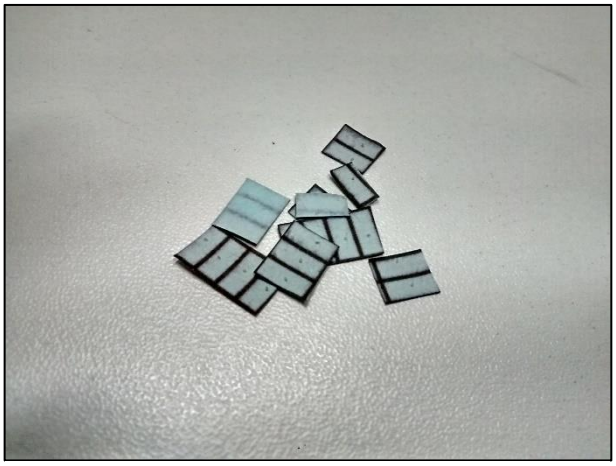

Figura 14. Cartelas com ovos parasitados recortados.

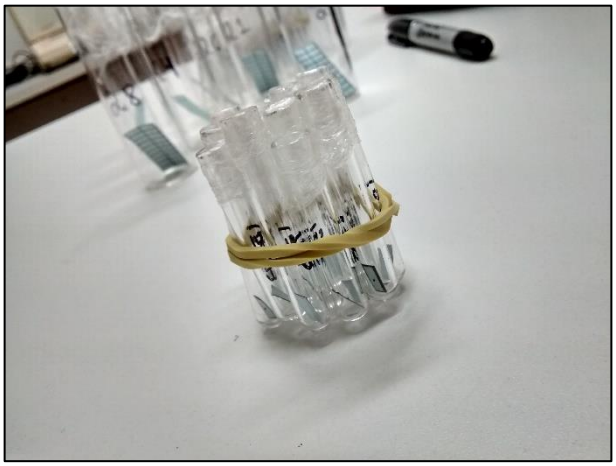

Figura 15. Tubos de Duran com ovos parasitados em cartelas quadriculadas individualizadas.

Foram avaliados a porcentagem de parasitismo, porcentagem de emergência e porcentagem de indivíduos emergidos por ovo parasitado. O bioensaio foi conduzido em sala climatizada ajustada a 25 ± 1ºC, umidade relativa de 70 ± 10% e fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro.

4.4 Bioensaios com descendentes solitários e gregários de *Trichogramma pretiosum*

Para a obtenção dos descendentes solitários e gregários, foram realizadas 135 repetições oferecendo-se um ovo para uma fêmea de *T. pretiosum* em cartelas de cartolina azul celeste no interior de tubos de plástico (7,5 cm × 1 cm), tendo uma gotícula de solução de mel como alimento, e vedados com filme plástico de PVC (Figura 16).

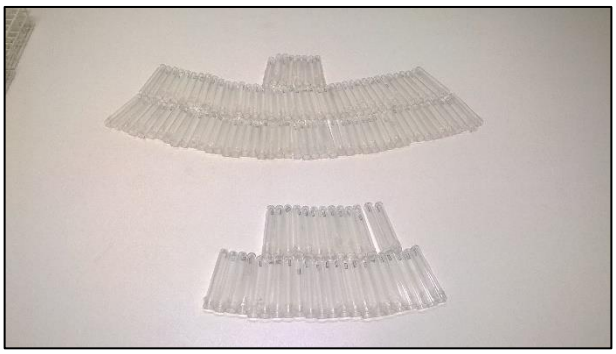

Figura 16. Tubos com mel contendo um ovo e uma fêmea.

A finalidade de se utilizar apenas um hospedeiro para cada parasitoide foi o de estimular o desenvolvimento gregário dos descendentes.

Transcorrido o período até a emergência dos descendentes, os mesmos foram separados em descendentes gregários e solitários, e foram realizadas novas repetições com os descendentes separadamente. O tratamento com descendentes solitários foi aquele onde apenas um indivíduo emergiu por ovo e o tratamento com descendentes gregários foi aquele onde dois indivíduos emergiram por ovo.

Os indivíduos (descendentes) provenientes de cada tratamento (solitários e gregários) foram colocados individualmente em tubos de plástico (7,5 cm × 1 cm) contendo uma gotícula de mel como alimento, em contato com 30 ovos hospedeiros. Os tubos foram fechados com filme plástico de PVC e os ovos ficaram em contato com a fêmea por 24 horas. Após esta etapa, as cartelas foram retiradas, sendo avaliado: porcentagens de parasitismo e emergência. Do total das repetições realizadas, apenas aquelas que haviam parasitismo evidenciado e emergido descendentes foram utilizadas, sendo 9 para indivíduos solitários e 16 para indivíduos gregários.

4.5 Determinação da longevidade dos indivíduos solitários e gregários

A longevidade dos indivíduos solitários e gregários foram avaliadas observando-se um experimento anterior ao bioensaio (4.4), com 20 repetições de uma fêmea para 5 ovos hospedeiros de *T. pretiosum*, sendo alcançados um, dois e três indivíduos por ovo hospedeiro.

4.6 Determinação de características morfométricas dos descendentes solitários e gregários

Foram avaliados os aspectos morfométricos dos indivíduos provenientes do desenvolvimento gregário e solitário obtidos do bioensaio (4.4).

As variáveis morfométricas analisadas foram: comprimento do corpo, comprimento da tíbia posterior esquerda e comprimento do flagelo antenal esquerdo (MOREIRA et al., 2009; DUROCHER-GRARGER et al., 2011; BOIVIN; MARTEL, 2012).

Os indivíduos foram mortos em congelador e imersos em álcool em gel. As fotografias em vista lateral, foram feitas com o auxílio de câmera acoplada ao estereomicroscópio. A câmera utilizada foi a Moticam 1000 e o software para a realização das medidas foi o Motic Image Plus 2.0 da Motic® (Figura 17).

Figura 17. Medição dos descendentes solitários e gregários com estereomicroscópio e software.

4.7 Análise dos dados

Os dados obtidos nos bioensaios foram submetidos aos testes de Kolmogorov e Bartlett para verificar a normalidade e homogeneidade da variância, respectivamente.

Posteriormente, para os dados que atenderam os requisitos de normalidade e homocedasticidade, foi realizada a análise de variância (ANOVA) para verificar as diferenças entre os efeitos principais (densidades de hospedeiros e idade de fêmeas) e a interação dos fatores (densidades × idades) em esquema fatorial 4 × 3 (BARBIN, 2013).

Quando ocorreu diferença significativa, as médias da porcentagem de parasitismo e porcentagem de emergência de *T. pretiosum* parasitando diferentes densidades de ovos e a longevidade dos adultos foram comparadas pelo teste de Student Newman Keulls ao nível de 5% de probabilidade. Os dados de porcentagem de parasitismo e emergência dos indivíduos solitários e gregários foram analisados usando o teste t de Student.

Para os dados que não atenderam aos requisitos da ANOVA, foram utilizados testes não paramétricos. Os dados de porcentagem de emergência de descendentes solitários e gregários após o parasitismo de fêmeas de diferentes idades e em diferentes densidades de hospedeiros foram analisados usando os testes de Wilcoxon

e Kruskal Wallis. Todas as análises foram conduzidas utilizando o software SAS versão 9.0 (SAS INSTITUTE, 2002).

5. RESULTADOS

5.1 Desempenho de parasitismo de uma fêmea de *Trichogramma pretiosum* em diferentes idades e em diferentes densidades de ovos de *Corcyra cephalonica*

Com relação às porcentagens de parasitismo de uma fêmea de *T. pretiosum*, sendo as mesmas de diferentes idades para diferentes densidades de hospedeiros, a fêmea no tratamento (1:5a), mostrou a maior porcentagem de parasitismo (90,0%), embora não tenha diferido significativamente quando as mesmas eram de dois e três dias de idade na mesma densidade, (1:5b) e (1:5c), que foram de 86,7% e 72,5% respectivamente ($F_{2, 15} = 2,50$; $P = 0,1156$) (Tabela 2).

No tratamento (1:10a), a fêmea parasitou apenas 40% de ovos hospedeiros, não diferindo significativamente no mesmo tratamento quando as mesmas tinham as idades de dois e três dias, (1:10b) e (1:10c) que apresentaram os valores de 57,5% e 61,1% respectivamente ($F_{2, 18} = 0,94$; $P = 0,4098$) (Tabela 2).

Quando relacionada as idades em (1:30), o tratamento (1:30a) diferiu significativamente de (1:30b) e (1:30c) apresentando o valor de 69,0% ($F_{2, 53} = 12,35$; $P < 0,0001$).

Nesta mesma densidade de hospedeiros, foi observado o menor desempenho de parasitismo, com as fêmeas na idade de dois dias (1:30b) apresentando 37,8%.

Tabela 2. Porcentagem de parasitismo por uma fêmea de *Trichogramma pretiosum* de diferentes idades em diferentes densidades de ovos de *Corcyra cephalonica*.

Relação fêm./hosp.	Idade das fêmeas (dias)					
	n	1	n	2	n	3
1:5	4	90,0±5,78 Aa[1]	6	86,7±4,22 Aa	8	72,5±6,48 Aa
1:10	4	40,0±12,24 Ba	8	57,5±11,30 ABa	9	61,1±6,76 ABa
1:20	8	73,7±10,89 ABa	14	72,1±7,24 Aa	18	61,7±5,27 ABa
1:30	14	69,0±5,91 ABa	21	37,8±4,38 Bb	21	41,1±3,64 Bb

[1]Médias ± erro padrão seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem pelo teste de Student Newman Keuls (P > 0,05). n = número de repetições.

5.2 Emergência de adultos em ovos parasitados por uma fêmea de *Trichogramma pretiosum* em diferentes idades e densidades de ovos de *Corcyra cephalonica*

Para o desempenho de emergência de adultos de ovos parasitados por uma fêmea de *T. pretiosum* de diferentes idades e em diferentes densidades de ovos hospedeiros de *C. cephalonica*, foi observado que a maior porcentagem de emergência ocorreu em (1:5b) com 90,0% ($F_{3, 45}$ = 4,39; P = 0,0086).

Já a menor porcentagem de emergência foi na densidade de (1:20), quando a fêmea estava com 3 dias de idade (Tabela 3).

Tabela 3. Emergência de adultos de ovos parasitados por uma fêmea de *Trichogramma pretiosum* em diferentes idades e densidades de ovos de *Corcyra cephalonica*.

Relação fêm./hosp.	Idade das fêmeas (dias)					
	n	1	n	2	n	3
1:5	4	68,7±12,64 Ba[1]	6	90,0±6,83 Aa	8	78,3±8,97 ABa
1:10	4	83,3±6,80 ABa	8	88,3±5,10 Aa	9	84,9±4,35 Aa
1:20	8	89,9±4,29 Aa	14	78,4±6,78 ABab	18	63,3±5,43 Bb
1:30	14	84,8±2,26 ABa	21	64,7±3,87 Bb	21	81,9±2,94 ABa

[1]Médias ± erro padrão seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem pelo teste de Student Newman Keuls (P > 0,05). n = número de repetições.

5.3 Porcentagens de emergência de indivíduos solitários e gregários após o parasitismo em diferentes idades de *Trichogramma pretiosum* em ovos de *Corcyra cephalonica*

Não foi observado diferença significativa em relação à porcentagem de emergência de indivíduos solitários e gregários após o parasitismo de fêmeas de *T. pretiosum.* Tanto para a emergência de um indivíduo quanto para a emergência de dois indivíduos nas três diferentes idades. A emergência de indivíduos solitários ficou acima de 90% (χ^2 = 2,75; GL = 2; P = 0,2524), enquanto que a de indivíduos gregários foi abaixo de 10% (χ^2 = 1,71; GL = 2; P = 0,4256) (Tabela 4).

Tabela 4. Emergência de indivíduos solitários e gregários após o parasitismo em ovos de *Corcyra cephalonica* por *Trichogramma pretiosum* em diferentes idades.

Idade das fêmeas (dias)	Indivíduos/hospedeiro		
	n	1 indivíduo	2 indivíduos
1	30	92,9±4,03 a*	7,0±4,03 a
2	30	91,4±3,06 a*	8,6±3,06 a
3	30	94,9±2,18 a*	5,1±2,18 a

[1]Médias ± erro padrão seguidas de asterisco na linha, não diferem pelo teste de Wilcoxon (P > 0,05). Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Kruskal Wallis (P > 0,05). n = número de repetições.

5.4 Emergência de indivíduos solitários e gregários após o parasitismo de fêmeas de *Trichogramma pretiosum* em diferentes densidades de ovos de *Corcyra cephalonica*

A porcentagem de emergência de indivíduos solitários e gregários após o parasitismo de fêmeas de *T. pretiosum* em diferentes densidades de ovos hospedeiros de *C. cephalonica*, apresentou diferença significativa apenas para a relação (1:5). Os valores foram de 67,7% (χ^2 = 22,32; GL = 3; P < 0,0001) para a emergência de um indivíduo por ovo hospedeiro e 32,3% para a emergência de dois indivíduos por ovo hospedeiro (χ^2 = 7,13; GL = 1; P = 0,0076). Para os demais tratamentos (1:10, 1:20 e 1:30) não ocorreu diferença significativa para a emergência de indivíduos solitários e gregários, sendo a emergência acima de 90% para indivíduos solitários e abaixo de 10% para indivíduos gregários (Tabela 5).

Tabela 5. Porcentagens de emergência de indivíduos solitários e gregários após o parasitismo em ovos de *Corcyra cephalonica* por *Trichogramma pretiosum* em diferentes proporções parasitoide/hospedeiro.

Relação Fêm./hosp.	Descendentes/hospedeiro		
	n	1 indivíduo	2 indivíduos
1:5	18	67,7±8,51 b*[1]	32,3±8,51 a
1:10	21	91,9±5,24 a*	8,1±5,24 b
1:20	40	99,0±0,60 a*	1,0±0,60 b
1:30	56	97,9±0,62 a*	2,1±0,62 b

[1]Médias ± erro padrão seguidas de asterisco na linha, não diferem pelo teste de Wilcoxon (P > 0,05). Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Kruskal Wallis (P > 0,05). n = número de repetições.

5.5 Parasitismo e emergência de indivíduos solitários e gregários de *Trichogramma pretiosum* em ovos de *Corcyra cephalonica*

Em relação às porcentagens de parasitismo e emergência de indivíduos solitários e gregários provenientes de um único ovo hospedeiro de *C. cephalonica*, os indivíduos solitários produziram 86,8% de parasitismo, com 79,5% de emergência de adultos de *T. pretiosum*. Estes resultados foram significativamente maiores que as porcentagens de parasitismo (t = -2,39; GL = 22; P = 0,0258) e emergência (t = -2,80; GL = 21; P = 0,0107) de indivíduos gregários, sendo estas de 66,3% e 62,2% respectivamente (Tabela 6).

Tabela 6. Porcentagens de parasitismo e de emergência de indivíduos solitários e gregários de *Trichogramma pretiosum* em ovos de *Corcyra cephalonica*.

Tratamentos	n	Parasitismo (%)	Emergência (%)
Solitários	9	86,8±2,99*[1]	79,5±2,57*
Gregários	16	66,3±5,82	62,2±4,25

[1]Médias ± erro padrão; *indica diferença pelo teste de t de Student (P > 0,05). n = número de repetições.

5.6 Longevidade de indivíduos solitários e gregários de *Trichogramma pretiosum* em ovos de *Corcyra cephalonica*

A longevidade dos indivíduos que emergiram solitariamente e gregariamente de um único ovo hospedeiro não diferiu significativamente ($F_{2, 38}$ = 1,60; P = 0,2159). Quando um indivíduo emergiu por ovo, a média alcançada foi de 17,5 dias. Quando dois e três indivíduos emergiram de um único ovo hospedeiro, as médias foram de 12,0 e 14,7 dias, respectivamente (Tabela 7).

Tabela 7. Longevidade de descendentes solitários e gregários de *Trichogramma pretiosum* em ovos de *Corcyra cephalonica*.

Tratamentos	n	Longevidade (dias)
1 indivíduo	20	17,5±2,03 a[1]
2 indivíduos	17	12,0±2,09 a
3 indivíduos	4	14,7±7,19 a

[1]Médias ± erro padrão seguida de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Student Newman Keuls (P > 0,05). n = número de repetições.

5.7 Determinação de características morfométricas dos descendentes solitários e gregários

Quanto às características morfométricas analisadas dos indivíduos gregários e solitários de *T. pretiosum*, ocorreu diferença significativa para o comprimento do corpo (mm) e comprimento da tíbia posterior (mm) (Figura 18).

O comprimento do corpo de uma fêmea de *T. pretiosum* que emergiu solitariamente foi 0,09 mm maior do que a de um indivíduo gregário (t = -5,32; GL = 20; P < 0,0001). Com relação à tíbia posterior de um indivíduo solitário, este parâmetro foi 0,03 mm maior do que a de um gregário (Tabela 8).

Tabela 8. Características morfométricas de descendentes solitários e gregários de *Trichogramma pretiosum* em ovos de *Corcyra cephalonica*.

Tratamentos	n	Comprimento (mm)		
		Corpo	Tíbia posterior esquerda	Flagelo da antena esquerda
Solitários	8	0,48±0,016*[1]	0,16±0,009*	0,15±0,004
Gregários	14	0,39±0,010	0,13±0,004	0,13±0,005

[1]Médias ± erro padrão; * indica diferença pelo teste de t de Student (P > 0,05). n = número de repetições.

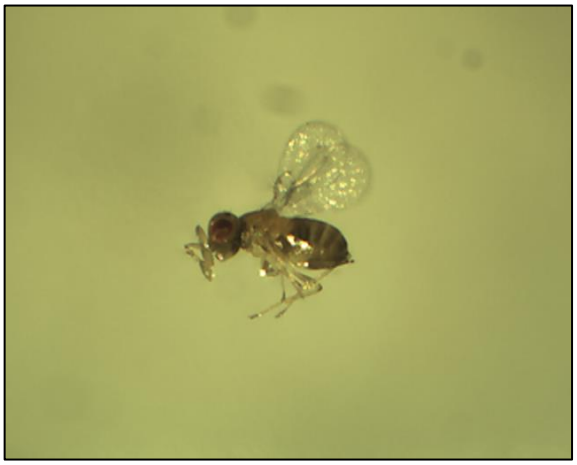

Figura 18. Fotografia utilizada nas medições dos parâmetros de tamanho do corpo, tíbia posterior e flagelo da antena.

6. DISCUSSÃO

Adultos de *T. pretiosum* que emergiram solitariamente de ovos de *C. cephalonica,* apresentaram performances biológicas melhores e características morfométricas maiores em relação àqueles que se desenvolveram gregariamente.

As performances de parasitismo e emergência, dos indivíduos retirados aleatoriamente das criações, não demonstrou ter relação com as diferentes densidades de hospedeiros ofertados e nem com a idade em que a fêmea estava quando efetivou o parasitismo, porém, para o número de indivíduos que emergiram de ovos hospedeiros nas diferentes densidades, o tratamento (1:5) favoreceu o desenvolvimento gregário de *T. pretiosum*.

Quando se observou a menor densidade de ovos, com a fêmea na idade de um dia após sua emergência (1:5a), a taxa de parasitismo foi de 90,0%, sendo a maior alcançada dentre os tratamentos realizados, e destes mesmos 90,0%, apenas 68,7% emergiram, sendo a menor taxa de emergência atingida. A observação de taxas de emergência menores do que aquelas de parasitismo foi comum entre os tratamentos, possivelmente devido a alguns fatores como, por exemplo, no dia da avaliação do número de adultos emergidos (aproximadamente o 10.º dia após ofertados as fêmeas), alguns deles ainda não haviam completado o desenvolvimento, ou morreram.

A menor taxa de emergência de adultos, observado no tratamento (1:5a), pode-se deduzir que a emergência de adultos na menor densidade de ovos, pode estar relacionada com o desenvolvimento gregário de larvas de *T. pretiosum*. Os recursos nutricionais e de espaço limitados dos ovos hospedeiros podem levar a uma competição entre as larvas A presença deste comportamento de agressividade entre irmãos e coespecíficos faz com que poucos ou nenhum dos indivíduos em desenvolvimento sobreviva, e/ou ainda que sobrevivam, poderão ter sofrido traumas morfológicos e fisiológicos como consequências (BOIVIN; van BAAREN, 2000).

Ganem (1998) explica que em muitos animais, a tolerância com um coespecífico ou um irmão é uma condição necessária para o agrupamento de

indivíduos, sendo considerado um importante passo na evolução do desenvolvimento solitário para o gregário.

Outro fator que pôde ter cooperado com o desenvolvimento de larvas gregárias, foi o superparasitismo. O superparasitismo é a deposição de uma carga de ovos ou um único ovo por uma fêmea parasitoide, em hospedeiro previamente parasitado (DORN; BECKAGE (2007). De Bortoli et al., (2014) citam que o superparasitismo poderá acontecer quando a permanência de adultos de *Trichogramma* nas criações massais for de até 24 horas após sua emergência. Embora neste trabalho não se tenha observado diretamente a ocorrência de superparasitismo, o hospedeiro *C. cephalonica* mostrou ter condições para que até dois insetos se desenvolvessem, seja por autosuperparasitismo ou não, e mostrou ser evidente na menor densidade de ovos hospedeiros ofertados para uma fêmea (1:5) independentemente da idade.

Outro fator que pôde ter levado a diminuição da performance de parasitismo dos tratamentos de uma fêmea para diferentes densidades hospedeira, é a maneira de manipulação dos ovos de *C. cephalonica* durante a execução do experimento. Figueroa (2015) cita que as fêmeas de *Trichogramma* podem rejeitar ovos hospedeiros devido a alterações dos componentes presentes no córion, uma vez que semioquímicos, como cairomônios (substâncias que favorecem o receptor) durante o processo de seleção hospedeira.podem ser alterados Este mesmo autor observou que no momento da colagem dos ovos hospedeiros de *P. xylostella* e *C. cephalonica* com goma arábica a 10%, o uso de pincel em testes desenvolvidos em laboratório, pode gerar alterações na aceitação hospedeira ao remover e/ou alterar as pistas químicas presentes na superfície dos ovos, ou ainda, excessivas manipulações podem danificar as aerópilas (poros especializados em trocas gasosas presentes no córion), reduzindo o transporte de oxigênio no interior do ovo e por consequência alterar a qualidade nutricional do oócito, reconhecido pela fêmea durante o processo de aceitação hospedeira quando o ovipositor é inserido. Embora neste estudo tenha sido utilizado apenas água deionizada para colar ovos, a manipulação do hospedeiro durante a montagem dos bioensaios pôde ter sido a causa dos baixos números de repetições úteis alcançados em alguns tratamentos.

A idade das fêmeas de *T. pretiosum* não demonstrou ter relação com a quantidade de indivíduos produzidos, sendo predominante a emergência de um indivíduo por ovo de *C. cephalonica*, em mais de 90,0%, até o 3.º dia de vida.

Quanto à longevidade dos adultos de *T. pretiosum* emergidos de ovos de *C. cephalonica*, tanto indivíduos solitários quanto gregários, não apresentaram diferenças significativas. Tendo em vista que estes indivíduos logo após sua emergência foram alimentados com mel, este fato possibilitou que eles vivessem por um tempo relativamente parecido. Como evidenciado por Tunçbilek, Cinar e Canpolat (2012), os adultos de *Trichogramma* emergem com uma carga energética limitada, procedente dos estádios larvais, e não cobrem mais que 48 horas para os requerimentos de manutenção e reprodução necessitados pelos adultos, dependendo da disponibilidade de nutrientes e o valor biológico dos ovos-hospedeiros. Talvez, os indivíduos que se desenvolveram gregariamente tenham um decréscimo na longevidade em relação aos solitários quando não alimentados com mel imediatamente após sua emergência, visto que são indivíduos menores, e que se alimentaram com recursos limitados compartilhados com outros indivíduos irmãos no hospedeiro. São salvos aqueles que, numa situação natural em campo, alcançam plantas onde possam utilizar alimento (exsudados vegetais, por exemplo) para satisfazerem as suas necessidades energéticas e nutricionais necessárias para incrementar a “saúde” destes parasitoides, sem que apresentem sintomas de apatia como locomoção, longevidade e fisiologia reprodutiva menores (WÄCKERS, 2005).

O tamanho de uma fêmea de *T. pretiosum* depende de dois fatores: o tamanho do ovo hospedeiro do qual ela emergiu, e o número de coespecíficos que emergem dele (BAI et al., 1992) Neste experimento foi demonstrado que uma fêmea de *T. pretiosum* foi capaz de alocar uma quantidade de ovos no hospedeiro *C. cephalonica,* que possui o volume estimado de 0,031 mm^3 (FIGUEROA, 2015) e nutrientes para que até dois indivíduos fossem capazes de se desenvolverem completamente (PARRA; ZUCCHI, 2004), sendo essa incidência menor em relação aos solitários e favorecida na menor densidade de hospedeiros (1:5).

Nas criações massais de *T. pretiosum* para uso em programas de controle biológico inundativo em cultivos agrícolas, o desenvolvimento gregário é uma condição de desenvolvimento negativa. Conforme demonstrado neste estudo, os

indivíduos provenientes desta condição de desenvolvimento possuem menor capacidade de parasitismo em relação aos indivíduos que emergem solitariamente. Assim, nas criações comerciais de *T. pretiosum,* deve-se buscar ofertar mais ovos/fêmea, sendo as relações acima de 10 ovos hospedeiros/fêmea as mais indicadas.

7. CONCLUSÃO

Das diferentes razões do número de ovos do hospedeiro *C. cephalonica* no desenvolvimento de *T. pretiosum*, a menor densidade favoreceu o desenvolvimento gregário, sendo a incidência de gregários menor em relação a solitários.

Adultos provenientes do desenvolvimento gregário têm desempenhos de parasitismo e tamanhos inferiores aos solitários.

8. REFERÊNCIAS

ALLOTEY, J.; AZALEKOR, W. Some aspects of the biology and control using botanicals of the rice moth, *Corcyra cephalonica* (Stainton), on some pulses. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 36, n. 3, p. 235-243, 2006.

ALMEIDA, R. P. de. ***Trichogramma* and its relationship with *Wolbachia*: Identification of *Trichogramma* species, phylogeny, transfer and costs of *Wolbachia* symbionts**. 2004. 142 f. Tese (Doutorado) – Wagenignen University, The Netherlands, 2004.

AMARO, J. T.; BUENO, A. F.; POMARI-FERNANDES, A. F.; NEVES, P. M. O. J. Selectivity of Organic Products to *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 44, n. 5, p. 489-997, 2015.

ARMAS, E. D. de.; MONTEIRO, R. T. R.; AMÂNCIO, A. V.; CORREA, R. M. L.; GUERCIO, M. A. Uso de Agrotóxicos em Cana-de-Açúcar na Bacia do Rio Corumbataí e o Risco de Poluição Hídrica. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 6, p. 975-982, 2005.

AGRA, N. G.; SANTOS, R. F. dos. **Agricultura brasileira:** situação atual e perspectivas de desenvolvimento. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 39., 2001, Recife. **Anais...** Recife: SOBER, 2001. Disponível em: <http://www.gpublic.info/sites/default/files/biblioteca/denru_agribrasil.pdf>. Acesso em: 15 fev. 2016.

BAI, B.; LUCK, R. F.; FORSTER, L.; STEPHENS, B.; JANSSEN, J. M. The effect of host size on quality attributes of the egg parasitoid, *Trichogramma pretiosum*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, West Sussex, v. 64, n. 1, p. 37-48, 1992.

BARBIN, D. **Planejamento e análise estatística de experimentos agronômicos.** Londrina: Mecenas, 2013, 214 p.

BARRET, M.; SCHMIDT, J. M. A comparison between the amino acid composition of na egg parasitoid wasp and some of its hosts. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, West Sussex, v. 59, n. 1, p. 29-41, 1991.

BERNARDI, E. B.; HADDAD, M. L.; PARRA, J. R. P. 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.

BLATT, S.; RYAN, A.; ADAMS, S.; FRANKLIN, J.; DRISCOLL, J. Use of *Trichogramma* and *Bt* for control of *Pieris rapae* in cabbage on Prince Edward Island. **Journal of the Acadian Entomological Society**, New Maryland, v. 12, n. 1, p. 1-6, 2016.

BOIVIN, G. Reproduction and Immature Development of Egg Parasitoids. In: CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Eds.). **Egg Parasitoids in Agroecosystems with Emphasis on *Trichogramma***. New York: Springer, 2010. p. cap. 1, p. 1-24.

BOIVIN, G.; MARTEL, V. Size-induced reproductive constrains in an egg parasitoid. **Journal of Insect Physiology**, Amsterdam, v. 58, n. 12, p. 1694-1700, 2012.

BOIVIN, G.; van BAAREN, J. The role of larval aggression and mobility in the transition between solitary and gregarious development in parasitoids wasps. **Ecology Letters**, West Sussex, v. 3, n. 6, p. 469-474, 2000.

BUENO, A. de F.; BATISTELA, M. J.; BUENO, R. C. O. de F.; FRANÇA-NETO, J. de B.; NISHIKAWA, M. A. N.; LIBÉRIO FILHO, A. Effects of integrated pest management, biological control and prophylactic use of insecticides on the management and sustainability of soybean. **Crop Protection**, Amsterdam, v. 30, n. 7, p. 937-945, 2011.

CARVALHO, J. R. de. PRATISSOLI, D.; DALVI, L. P.; SILVA, M. A.; BUENO, R. C. O. D. F.; BUENO, A. D. F. Parasitism capacity of *Trichogramma pretiosum* on eggs of *Trichoplusia ni* at different temperatures. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 36, n. 4, p. 417-424, 2014.

DE BORTOLI, S. A.; VACARI, A. M.; NEVES, R. C. dos SANTOS; RAMALHO, D. G.; SANTOS, N. A. dos; SANTOS, R. F. dos. In: BUSOLI, A. C.; CASTILHO, R. de CAMPOS; ANDRADE, D. J.; ROSSI, G. D.; VIANA, D. de LIMA; FRAGA, D. F.; SOUZA, L. A. de. (Eds.). **Criação massal de insetos e o controle biológico aplicado**. Jaboticabal: Unesp, 2015. p. 181-198.

DE BORTOLI, S. A.; VACARI, A. M.; LAURENTIS, V. L. de; SALAS-FIGUEROA, C. A.; TREVISAN, M.; DIBELLI, W. In: BUSOLI, A.; SOUZA, L. A. de; ALENCAR, J. R. D. C. C.; FRAGA, D. F.; GRIGOLLI, J. F. J. (Eds.). **Aplicação da criação massal de insetos**. Jaboticabal: Unesp, 2014. p. 141-164.

CÔNSOLI, F. L.; ROSSI, M. M. PARRA, J. R. P. Developmental time and characteristics of the immature stages of *Trichogramma galloi* and *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Revista Brasileira de Entomologia.** São Paulo, v. 43, n. 3/4, p. 271-275, 1999.

DIAS, N. da S.; PARRA, J. R. P.; DIAS, C.T.D.S. Tabela de vida de fertilidade de três espécies neotropicais de Trichogrammatidae em ovos de hospedeiros alternativos como critério de seleção hospedeira. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 54, n. 1, p. 120-124, 2010.

DOYON, J.; BOIVIN, G. The effect of development time on the fitness of female *Trichogramma evanescens*. **Journal of Insect Science**, Cary, v. 5, n. 1, p. 1-4, 2005.

DORN, S.; BECKAGE, N. Superparasitism in gregarious hymenopteran parasitoids: ecological, behavioural and physiological perspectives. **Physiological Entomology**, West Sussex, v. 32, n. 3, p. 199-211, 2007.

DUROCHER-GRANGER, L.; MARTEL, V.; BOIVIN, G. Gamete number and size correlate with adult size in the egg parasitoid *Trichogramma euproctidis*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, West Sussex, v. 140, n. 3, p. 262-268, 2011.

FIGUEROA, C. A. S. **Alternância de hospedeiros de criação e efeito de bioinseticidas no parasitismo de *Trichogramma pretiosum* em ovos de *Plutella xylostella***. 2015. 54 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdades de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2015.

GANEM, G. Evolution of pacifism may have followed similar paths in *Spalax* and in the bathyergid mole-rats: a reply to H. Burda. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, Heidelberg, v. 42, n. 5, p. 365-367, 1998.

GODFRAY, H. C. J. **Parasitoids behavioral and evolutionary ecology**. West Sussex: Princeton University Press, 1994. 366 p.

GOMES, S. M. **Comparação de três hospedeiros alternativos para a criação e produção massal de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 e *T. galloi* Zucchi, 1988.** 1997. 106 f. Dissertação de Mestrado – ESALQ/USP, Piracicaba, 1997.

GOULART, R. M. Criação de *Trichogramma* spp. In: DE BORTOLI, S. A. (Ed.). **Criação de insetos:** da base à biofábrica. 1. ed. Jaboticabal: FCAV, 2009. cap. 2, p. 127-134.

GRENIER, S. Rearing of *Trichogramma* and other egg parasitoids on artificial diets. In: WAJNBERG, E., HASSAN, S. A. **Biological control with egg parasitoids**. Oxfordshire: 1. ed. CAB International, 1994. cap. 4, p. 73-92.

GHOSH, B.; GROGNARD, F.; MAILLERET, L. Natural enemies deployment in patchy environments for augmentative biological control. **Applied Mathematics and Computations**, Philadelphia, v. 266, n. 1, p. 982-999, 2015.

KFIR, R. Effect of hosts parasite density on the egg parasite *Trichogramma pretiosum*. **Entomophaga**, Dordrecht, v. 26, n. 1, p. 445-451, 1981.

KLOMP, H.; TEERINK, B. J. The significance of oviposition rates in the egg parasite *Trichogramma embryophagum***. Archives Néerlandaises de Zoologie.** Leiden, v. 17, n. 3, p. 350-375, 1967.

KOGAN, M. Integrated pest management: historical perspectives and contemporary development. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 43, n. 1, p. 243-270, 1998.

LACEY, L. A.; FRUTUS, R.; KAYA, H. K.; VAIL, P. Insect pathogens as biological control agents: do they have a future? **Biological Control**, Maryland Heights, v. 21, n. 3, p. 230-248, 2001.

MAGRO, S. R.; PARRA, J. R. P. Biology of the ectoparasitoid *Bracon hebetor* Say, 1857 (Hymenoptera: Braconidae) on seven lepidopteran species. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, n. 4, p. 693-698, 2001.

MBATA, G. N. Studies on some aspects of the biology of *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Galleriidae). **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 25, n. 4, p. 181-186, 1989.

MONNERAT, R. S.; BATISTA, A. C.; MEDEIROS, P. T. de.; MARTINS, E. S.; MELATTI, V. M.; PRAÇA, L. B.; DUMAS, V. F.; MORINAGA, C.; DEMO, C.; GOMES, A. C. M.; FALCÃO, R.; SIQUEIRA, C. B.; SILVA-WERNECK, J. O.; BERRY, C. Screening of brazilian *Bacillus thuringiensis* isolates active against *Spodoptera frugiperda, Plutella xylostella* and *Anticarsia gemmatalis*. **Biological Control**, Maryland Heights, v. 41, n. 3, p. 291-295, 2007.

MOREIRA, M. D.; DOS SANTOS, M. C. F.; BESERRA, E. B.; TORRES, J. B.; DE ALMEIDA, R. P. Parasitismo e superparasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Sitotroga cerealella* (Oliver) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 2, n. 38, p. 237-242, 2009.

NAGARKATTI, S.; NAGARAJA, H. Key to some new world species of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), with descriptions of four new species. **Proceedings of the Entomological Society of Washington**, Laurel, v. 75, n. 1, p. 288-297, 1973.

NOYES, J. S. Universal Chalcidoidea Database. Disponível em: <http://www.nhm.co.uk/chalcidoids>. Acesso em: 15 out. 2016.

ODE, P. J.; ROSENHEIM, J. A. Sex allocation and the evolutionary transition between solitary and gregarious parasitoid development. **The American Naturalist**. Chicago, v. 152, n. 5, p. 757-761, 1998.

PARRA, J. R. Situação do controle biológico no Brasil. Disponível em: < http://www.fapesp.br/10030>. Acesso em: 18 out. 2016.

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

PARRA, J. R. P. Biological control in Brazil: an overview. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 71, n. 5, p. 345-355, 2014.

PARRA, J. R. P.; CONSOLI, F. L. Criação massal e controle de qualidade de parasitoides de ovos. In: BUENO, V. H. P. (Ed.). **Controle Biológico de Pragas**. 1. ed. Lavras: Editora UFLA, 2009. Cap. 5, p. 170-197.

PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. *Trichogramma* in Brazil: feasibility of use after twenty years of research. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 3, p. 280-287, 2004.

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

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

POMARI, A. F. **Características biológicas de *Telenomus remus* Nixon em ovos de *Corcyra cephalonica* (Stainton) e *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith): bases para o desenvolvimento de programas de controle biológico aplicado para as culturas da soja e milho**. 2013. 110 f. Tese (Doutorado em Ciências: Área Entomologia). Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2013.

QUERINO, R. B.; SILVA, N. N. P.; ZUCCHI, R. A. Parasitismo natural por *Trichogramma* spp. em agroecossistemas do Meio-Norte, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 46, n. 9, p. 1521-1523, 2016.

QUERINO, R. B.; ZUCCHI, R. A. **Guia de identificação de *Trichogramma* para o Brasil.** Embrapa: Brasília, DF, 2011. p. 9-21.

SALT, G. Experimental studies in insect parasitism III. Host Selection. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciencies** London, v. 117, n. 805, p. 413-435, 1935.

SALT, G. Experimental studies in insect parasitism VII. The effects of different hosts on the parasite *Trichogramma evanescens* Westwood (Hym. Chalcidoidea). **Proceedings of the Royal Society of London. Series A, General Entomology.** London, v. 15, n. 10-12, p. 81-95, 1940.

SAS INSTITUTE, SAS/STAT User's Guide, version 9.0 TS level 2MO. SAS Institute Inc., Cary, NC: SAS Institute Inc., 2002.

SCHMIDT, J. M.; SMITH, J. B. Host volume measurement by the parasitoid wasp *Trichogramma minutum*: the roles of curvature and surface area. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, West Sussex, v. 39, n. 3, p. 213-221, 1985.

SOUZA, J. L. de. **Balanço energético em cultivos orgânicos de hortaliças.** 2006. 219 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, 2006.

TUNÇBILEK, A. Ş.; CINAR, N.; CANPOLAT, Ü. Effects of artificial diets and floral nectar on longevity and progeny production of *Trichogramma euproctidis* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Turkish Journal of Entomology**, Bornova, v. 36, n. 2, p. 183-191, 2012.

van LENTEREN, J. C. Critérios de seleção de inimigos naturais. In: BUENO, V. H. P. (Ed.). **Controle Biológico de Pragas**. 1. ed. Lavras: Editora UFLA, 2009. cap. 1, p. 11-32.

VIEIRA, N. F. **Metodologia de Criação, Aspectos Biológicos e Custo de Produção de *Xylocoris afer* predando ovos de *Corcyra cephalonica* e *Plutella xylostella***. 2016. 71 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdades de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2016.

VINSON, S. B. Comportamento de seleção hospedeira de parasitoides de ovos, com ênfase na família Trichogrammatidae. In: PARRA, J. R. B.; ZUCCHI, R. A. (Eds.). ***Trichogramma* e o controle biológico aplicado.** 1. ed. Piracicaba: FEALQ, 1997. cap. 3, p. 67-119.

VOLPE, H. X. L.; GOULART, R. M. Criação de *Anagasta kuehniella*. In: DE BORTOLI, S. A. (Ed.). **Criação de insetos:** da base à biofábrica. 1. ed. Jaboticabal: FCAV, 2009. cap. 2, p. 162-172.

WÄCKERS, F. L. Suitability of (extra-) floral nectar, pollen, and honeydew as insect food sources. In: WÄCKERS, F. L.; van RIJN, P. C. J.; BRUIN, J. (Eds.). **Plant-provided food for carnivorous insects:** a protective mutualism and its applications. 1 ed. Cambridge: Cambridge University Press: 2005. cap. 2, p. 17-74.