

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

FLAVIA DA SILVA KRECHEMER

Trichogramma spp. (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE): BIOLOGIA EM
OVOS DE *Trichoplusia ni* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) E ESTOCAGEM EM
BAIXAS TEMPERATURAS EM OVOS DE *Pseudaletia sequax* (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE)

CURITIBA
2010

FLAVIA DA SILVA KRECHEMER

Trichogramma spp. (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE): BIOLOGIA EM
OVOS DE *Trichoplusia ni* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) E ESTOCAGEM EM
BAIXAS TEMPERATURAS EM OVOS DE *Pseudaletia sequax* (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE)

Dissertação apresentada Programa de Pós-Graduação
em Ciências Biológicas – Zoologia, Setor de Ciências
Biológicas da Universidade Federal do Paraná, como
requisito parcial à obtenção do título de Mestre em
Ciências Biológicas área de concentração Zoologia.
Orientador: Luís Amilton Foerster

CURITIBA
2010

A ciência não é uma ilusão, mas seria uma ilusão acreditar que poderemos encontrar noutro lugar o que ela não nos pode dar.

Sigmund Freud

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Luis Amilton Foerster, por todos os ensinamentos em relação à pesquisa científica, pelo exemplo de pesquisador e pelo convívio durante os últimos anos.

Ao Curso de Pós-Graduação em Zoologia da UFPR, pela oportunidade de frequentar o curso.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

As professoras Alessandra Butnariu, Marion do Rocio Foerster e Maria Christina de Almeida por terem feito parte da banca examinadora e por todas as correções e sugestões.

À Vera Maria Adélio, secretária do Curso de Pós-Graduação em Zoologia da UFPR, pela dedicação e atenção durante o curso.

Aos professores do Curso de Pós-Graduação em Zoologia pelos ensinamentos e principalmente pelo convívio.

À Marion e Carolina por terem me ensinado muito do que sei sobre *Trichogramma*.

Aos colegas do Laboratório de Controle Integrado de Insetos.

Ao amigo e colega de laboratório, Cesar, por toda a ajuda, pelas sugestões, pelo exemplo de pesquisador, mas acima de tudo, pela grande amizade.

Às minhas amigas Mariana, Lais, Débora e Sandra pelo carinho e amizade.

Aos meus pais, pelo incentivo, compreensão e por tantos sacrifícios feitos pela minha formação.

A minha irmã Fernanda, pelo exemplo de coragem e determinação, mas acima de qualquer coisa, pelo apoio e amizade incondicional.

Ao meu irmão Fabio, pelo incentivo, amizade, e por estar sempre ao meu lado.

À Fran e ao Dani, pela amizade e por fazerem parte de minha família.

A minha família, um pedido de desculpas pela minha total ausência durante o curso.

Finalmente, agradeço a todos que de alguma forma participaram deste trabalho

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS	V
LISTA DE FIGURAS	VII
RESUMO	01
ABSTRACT	02
INTRODUÇÃO	03
REFERÊNCIAS	07
CAPÍTULO I. Exigências térmicas e influência da temperatura sobre a biologia de três espécies de <i>Trichogramma</i> spp. (Hymenoptera; Trichogrammatidae) em ovos de <i>Trichoplusia ni</i> (Lepidoptera; Noctuidae).....	12
RESUMO.....	13
ABSTRACT.....	13
INTRODUÇÃO.....	14
MATERIAL E MÉTODOS.....	15
RESULTADOS	17
DISCUSSÃO.....	23
REFERÊNCIAS.....	27
CAPÍTULO II. Efeito da estocagem em baixa temperatura de ovos de <i>Pseudaletia sequax</i> (Lepidoptera: Noctuidae) sobre a biologia de <i>Trichogramma pretiosum</i> e <i>Trichogramma atopovirilia</i> (Hymenoptera: Trichogrammatidae).....	31
RESUMO.....	32
ABSTRACT.....	32
INTRODUÇÃO.....	33
MATERIAL E MÉTODOS.....	34
RESULTADOS.....	36
DISCUSSÃO.....	42
REFERÊNCIAS.....	45

CAPÍTULO III. Biologia de <i>Trichogramma pretiosum</i> e <i>Trichogramma atopovirilia</i> (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de <i>Pseudaletia sequax</i> (Lepidoptera: Noctuidae) estocados em nitrogênio líquido.....	49
RESUMO.....	50
ABSTRACT	50
INTRODUÇÃO.....	51
MATERIAL E MÉTODOS.....	52
RESULTADOS.....	54
DISCUSSÃO.....	59
REFERÊNCIAS.....	63

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1: Análise de variância dos fatores de temperatura e espécie sobre a porcentagem de parasitismo e emergência de *Trichogramma pretiosum*, *Trichogramma atopovirilia* e *Trichogramma acacioi*.....18

Tabela 2: Análise de variância sobre o tempo de desenvolvimento, porcentagem de parasitismo, porcentagem de emergência, número de parasitóides/ovo, razão sexual, longevidade de fêmeas e longevidade de machos em *Trichogramma pretiosum*, *Trichogramma atopovirilia* e *Trichogramma acacioi*.....19

Tabela 3: Média (\pm EP) do tempo de desenvolvimento, porcentagem de parasitismo e porcentagem de emergência de *Trichogramma pretiosum*, *Trichogramma atopovirilia* e *Trichogramma acacioi* em diferentes temperaturas.....20

Tabela 4: Média (\pm EP) de número de parasitóides por ovo e razão sexual, longevidade (dias) de fêmeas e longevidade de machos de *Trichogramma pretiosum*, *Trichogramma atopovirilia* e *Trichogramma acacioi* em diferentes temperaturas.....21

CAPÍTULO II

Tabela 1: Análise de variância dos fatores de pré-parasitismo, pós-parasitismo e espécie, sobre a porcentagem de parasitismo, o número de parasitóides por ovo e a razão sexual de *Trichogramma pretiosum* e *Trichogramma atopovirilia*..... 37

Tabela 2: Porcentagem média (\pm EP) de parasitismo de *Trichogramma pretiosum* e *Trichogramma atopovirilia*.....38

Tabela 3: Porcentagem média (\pm EP) de número de parasitóides por ovo e razão sexual de *Trichogramma pretiosum* e *Trichogramma atopovirilia*..... 38

Tabela 4: Análise de variância dos fatores de pré-parasitismo, pós-parasitismo e espécie, sobre a longevidade de machos e fêmeas de <i>Trichogramma pretiosum</i> e <i>Trichogramma atopovirilia</i>	39
--	----

CAPÍTULO III

Tabela 1: Análise de variância dos fatores espécie e tempo de estocagem a -196°C, sobre a porcentagem de parasitismo, porcentagem de emergência, tempo de desenvolvimento, longevidade de machos e fêmeas, número de parasitóides por ovo e a razão sexual de <i>Trichogramma pretiosum</i> e <i>Trichogramma atopovirilia</i>	55
--	----

Tabela 2: Médias (+EP) de porcentagem de parasitismo, porcentagem de emergência, tempo de desenvolvimento, longevidade de machos e fêmeas, parasitóides emergidos por ovo e razão sexual de <i>Trichogramma atopovirilia</i> e <i>Trichogramma pretiosum</i> provenientes de ovos estocados a -196°C por 30, 60 e 90 dias.....	56
--	----

Tabela 3: Análise da variância do tempo de estocagem sobre os parâmetros porcentagem de parasitismo, porcentagem de emergência, tempo de desenvolvimento, longevidade de machos e fêmeas, parasitóides emergidos por ovo e razão sexual de <i>Trichogramma atopovirilia</i> e <i>Trichogramma pretiosum</i> provenientes de ovos estocados a -196°C por 30, 60 e 90 dias.....	58
---	----

Tabela 4: Porcentagem de parasitismo (\pm EP) de fêmeas de <i>Trichogramma pretiosum</i> e <i>Trichogramma atopovirilia</i> provenientes de ovos estocados a -196°C por 30, 60 e 90 dias.....	58
--	----

Tabela 5: Média (\pm EP) de ovos parasitados ao longo de cinco dias por fêmeas de <i>Trichogramma pretiosum</i> e <i>Trichogramma atopovirilia</i> provenientes de ovos estocados a -196°C por 30, 60 e 90 dias (N=20 ovos/dia).....	59
---	----

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Equação da regressão linear na taxa de desenvolvimento (1/D) de *Trichogramma pretiosum* criado em ovos de *Trichoplusia ni*..... 22

Figura 2. Equação da regressão linear na taxa de desenvolvimento (1/D) de *Trichogramma atopovirilia* criado em ovos de *Trichoplusia ni*..... 22

Figura 2. Equação da regressão linear na taxa de desenvolvimento (1/D) de *Trichogramma acacioi* criado em ovos de *Trichoplusia ni*..... 23

CAPÍTULO II

Figura 1. Longevidade de fêmeas de *Trichogramma atopovirilia* e *Trichogramma pretiosum* (Média \pm EP). Médias acompanhadas pela mesma letra nas colunas não diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).....40

Figura 2. Longevidade de machos de *Trichogramma atopovirilia* e *Trichogramma pretiosum* (Média \pm EP). Médias acompanhadas pela mesma letra nas colunas não diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)..... 41

RESUMO

A lagarta *Trichoplusia ni* (Hübner) se destaca como praga no cultivo de hortaliças. Os parasitóides do gênero *Trichogramma* Westwood foram descritos como inimigos naturais desta espécie e pesquisas que contemplem seu potencial no controle de *T. ni* são necessárias. O seu uso demanda uma grande quantidade de insetos a serem liberados na cultura e por esse motivo, pesquisas que visem a produção massal destes agentes através da estocagem em baixa temperatura são importantes. O presente estudo teve como objetivo avaliar a biologia e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley, *Trichogramma atopovirilia* Oatman e Platner e *Trichogramma acacioi* Brun, Moraes e Soares em ovos de *T. ni*, e avaliar métodos de estocagem de ovos de um hospedeiro alternativo, *Pseudaletia sequax* Franclemont, em refrigerador e em nitrogênio líquido. No experimento de exigências térmicas, ovos de *T. ni* foram parasitados pelas três espécies de *Trichogramma* nas temperaturas de 15, 20, 25 e 30 ± 1°C por 24h, com fotofase de 12h e umidade relativa de 70 ± 10%. A temperatura afetou a porcentagem de parasitismo e emergência dos parasitóides em ovos de *T. ni*. Comparada com as outras espécies avaliadas, *T. acacioi* foi a espécie menos tolerante as altas temperaturas. Ovos de *P. sequax* foram estocados a 4 ± 1°C e umidade relativa de 70 ± 10% por 20, 40 e 60 dias. Após estes períodos de estocagem, os ovos foram submetidos ao parasitismo por *T. pretiosum* e *T. atopovirilia* à 20 ± 1°C, e ao atingirem o estágio de pupa, foram transferidos novamente à temperatura de 4 ± 1°C por mais 0, 20 ou 40 dias. Os parâmetros de porcentagem de parasitismo, parasitóides obtidos por ovo, razão sexual e longevidade de machos e fêmeas sofreram influência do período de pré-parasitismo, período de pós-parasitismo e espécie. O tempo máximo de estocagem foi de 113 dias para *T. pretiosum* e 94 para *T. atopovirilia*. Em nitrogênio líquido, ovos de *P. sequax* foram estocados por 30, 60 e 90 dias e em seguida ofertados a *T. pretiosum* e *T. atopovirilia* por um período de 48h. A porcentagem de emergência e o tempo de desenvolvimento foram influenciados pelo tempo de estocagem e pela espécie. O tempo máximo de estocagem para as duas espécies foi de 106 dias. Os métodos de estocagem se mostraram viáveis para produção massal de *Trichogramma*, e estes parasitóides revelaram potencial para o controle de *T. ni*.

Palavras chave: Lagarta “falsa-medideira”, controle biológico, nitrogênio líquido, parasitóide de ovos

TRICHOGRAMMA SPP. (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE): BIOLOGY IN EGGS OF TRICHOPLUSIA NI (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) AND COLD STORAGE IN EGGS OF PSEUDALETIA SEQUAX (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

ABSTRACT - The cabbage looper *Trichoplusia ni* (Hübner) is one of the most important pest attacking brassicaceous crops. Egg parasitoids of the genus *Trichogramma* Westwood are described as natural enemies of this pest and studies on its potential to control *T. ni* are necessary. The use of *Trichogramma* Westwood species require a large number of individuals to be released in the crop and, therefore, studies aiming at the mass production of this biological control agent through cold storage are important. The present study aimed to evaluate the biology and thermal requirements of *Trichogramma pretiosum* Riley, *Trichogramma atopovirilia* Oatman e Platner and *Trichogramma acacioi* Brun, Moraes e Soares parasitizing *T. ni* eggs, and evaluate egg storage methods of an alternative host, *Pseudaletia sequax* Franclemont, in refrigerator and in liquid nitrogen. In the experiment on thermal requirements, host eggs were parasitized by three species of *Trichogramma* at 15, 20, 25 and 30 ± 1°C during 24h, 12h photophase and 70 ± 10% relative humidity. The three *Trichogramma* species were able to parasitize and develop in eggs of *T. ni*, and the temperature influenced the percentage of parasitism and emergence of the parasitoids. Compared with the other species evaluated, *T. acacioi* was less tolerant to high temperatures. Eggs of *P. sequax* were stored in a refrigerator at 4 ± 1°C and 70 ± 10% relative humidity during 20, 40 and 60 days. After these periods, the eggs were parasitized by *T. pretiosum* and *T. atopovirilia* at 20 ± 1 ° C and left to develop in this temepature. After pupation, the parasitoids were transferred again to the refrigerator at 4 ± 1°C during either 0, 20 or 40 days. The parameters percentage of parasitism, parasitoids per egg, sex ratio and longevity of males and females were influenced by the pre-storage period, the post-storage period and species. The maximum storage time was 113 days for *T. pretiosum* and 94 days for *T. atopovirilia*. In the liquid nitrogen storage, *P. sequax* eggs were stored during 30, 60 or 90 days and then exposed to parasitism by *T. pretiosum* and *T. atopovirilia* during 48 hours. The percentage of emergence and development time were influenced by storage period and species. The maximum storage time for *T. pretiosum* and *T. atopovirilia* in liquid nitrogen was 106 days. The cold storage methods evaluated in the present study proved to be viable for mass production of *Trichogramma* species, and these parasitoids have shown potential for *T. ni* control.

Key words: cabbage looper, biological control, liquid nitrogen, egg parasitoids

INTRODUÇÃO

O cultivo de hortaliças no Brasil ocupa uma área de 776 mil hectares (Embrapa 2004) e estima-se que a produção atual seja superior a 11 milhões de toneladas, com um valor aproximado de 2,5 bilhões de dólares (Embrapa 2000). Em Curitiba e região metropolitana, a produção de hortaliças aumentou muito nos últimos anos, devido à atividade de pequenos produtores e de plantações orgânicas. A crescente demanda, e a exigência por produtos de melhor qualidade têm afetado significativamente a forma da produção e comercialização das hortaliças (Embrapa 2000).

A incidência de pragas em hortaliças contribui para diminuir drasticamente a produtividade destes vegetais (Nakano 1999). Uma praga que vem se destacando no cultivo de crucíferas é a lagarta “falsa medideira” *Trichoplusia ni* (Hübner), caracterizada por uma coloração verde, marcada horizontalmente por uma faixa branca nas laterais do corpo (Capinera 2001). A mariposa é de coloração castanha com manchas circulares prateadas nas asas (McCully & Araiza 1990, Capinera 2001, Gallo *et al* 2002). Sua alimentação abrange várias crucíferas cultivadas, entre as quais se destacam brócolis, couve-flor, couve-chinesa e repolho (Capinera 2001). As lagartas se alimentam das folhas e causam danos diretos às plantas (Soo Hoo *et al* 1984, Capinera 2001, Maxwell *et al* 2006). As larvas do primeiro ao terceiro instar se alimentam na superfície ventral da folha, mantendo a superfície intacta, enquanto que as lagartas de quarto e quinto instar causam grandes perfurações nas folhas (Capinera 2001). *T. ni* é descrita como uma espécie de ocorrência errática, com elevada abundância em alguns anos, e escassez em outros (Capinera 2001), por isso são necessários estudos de controle preventivo da espécie (Maxwell *et al* 2006). Mesmo com o aumento considerável na produção de brássicas, poucos estudos foram realizados com o objetivo de combater as pragas desta cultura, dentre as quais *T. ni*. A grande maioria das pesquisas realizadas com insetos em horticultura se concentra na ação de inseticidas (Krishnaiah & Mohan 1983, Carballo *et al* 1989, Barros *et al* 1993, Reis & Souza 1996, Castelo Branco *et al* 2001, Castelo Branco & Amaral 2002, Martinelli *et al* 2003, Villas Bôas *et al* 2004), com pouca atenção ao estudo do controle biológico e manejo integrado de pragas (Monnerat *et al* 2000, Silva *et al* 2003).

Durante muito tempo, o controle de pragas foi realizado através da aplicação de defensivos químicos, sem que houvesse uma preocupação com a fauna benéfica natural

presente nas culturas (Imenes *et al* 1990). Este uso desordenado desencadeou o surgimento de outros problemas como a resistência de insetos a inseticidas, aparecimento de pragas secundárias, ressurgência de pragas e efeitos nocivos sobre inimigos naturais (Rajakulendran & Plapp 1982, Metcalf & Luckmann 1994, Van Driesche & Bellows Jr 1996, Gallo *et al* 2002).

Atualmente existe uma necessidade de integração de métodos variados visando o controle de pragas agrícolas. A agroecologia tem por objetivo a manutenção do equilíbrio de populações de animais no ambiente e o controle biológico se destaca como uma importante ferramenta, pois, promove a redução de pragas, diminuindo ou eliminando a necessidade de utilização de inseticidas (Silva 2000). Atualmente o controle biológico é empregado em muitas culturas de interesse econômico para a supressão de pragas, através de predadores, parasitóides e patógenos (Parra 1992).

Entre os agentes de controle utilizados na supressão de lepidópteros-praga que atacam plantas cultivadas, os parasitóides de ovos do gênero *Trichogramma* Westwood se destacam mundialmente (Hohmann *et al* 1988, Bai *et al* 1992, Jalali & Singh 1992, Takada *et al* 2001, Hansen & Jensen 2002, Van Lenteren & Bueno 2003, Tezze & Botto 2004). Este fato se deve principalmente à eficiência de parasitismo em campo e a facilidade de sua criação em laboratório (Takada *et al* 2001, Van Lenteren & Bueno 2003). Pesquisas com este gênero são realizadas em mais de 50 países e liberações deste parasitóide acontecem anualmente em mais de 32 milhões de hectares em culturas anuais e perenes (Smith 1996).

Trichogramma já foi descrito como um inimigo natural de *T. ni* (Oatman & Platner 1971, Butler & Lopez 1980). Em ovos de *T. ni*, pesquisas com *Trichogramma pretiosum* Riley foram realizadas por Oatman & Platner (1971) e Butler & Lopez (1980), porém, não se conhece o potencial de outras espécies de *Trichogramma* no controle desta praga. Espécies que ocorrem no sul do Brasil, como *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner e *Trichogramma acacioi* Brun, Moraes & Soares estão entre as espécies mais abundantes no cultivo de milho e soja (Foerster & Avanci 1999, Cañete & Foerster 2003) e podem também ser avaliadas como potenciais agentes de controle de *T. ni*.

O ciclo de vida do parasitóide, assim como sua capacidade de parasitismo, diferem entre espécies e podem variar de acordo com a temperatura e a espécie hospedeira (Hassan 1997, Scholler & Hassan 2001). A temperatura é um fator abiótico importante para o desenvolvimento e eficiência dos parasitóides em campo. Portanto,

faz-se necessária uma compreensão detalhada da relação entre temperatura, espécie hospedeira e desenvolvimento de *Trichogramma* spp. (Butler & Lopez 1980, Haddad *et al* 1999).

Muitas das pesquisas realizadas com espécies de *Trichogramma* são voltadas à produção massal deste agente de controle (Van Schelt & Ravensberg 1990, Jalali & Singh 1992, Tezze & Botto 2004), pois as liberações de *Trichogramma* em campo demandam um número grande de insetos (Stinner *et al* 1974, Jalali & Singh 1992, Rundle *et al* 2004). A estocagem de inimigos naturais em baixa temperatura pode ser uma alternativa para a sua produção em larga escala, pois este método possibilita flexibilidade e eficiência na produção massal, garantindo um número suficiente de insetos para liberações em campo, bem como o sincronismo entre emergência dos inimigos naturais e a época de maior ocorrência da praga (Greco & Stilinovic 1998, Pitcher *et al* 2002, Tezze & Botto 2004, Chen *et al* 2008).

Os principais métodos pesquisados têm sido a estocagem em refrigerador, freezer e nitrogênio líquido (Greco & Stilinovic 1998). A estocagem em refrigerador tem sido viável para ovos hospedeiros e pupas de *Trichogramma* spp. por curtos períodos de tempo (Dass & Ram 1983, Özder 2004, Jalali *et al* 2007). No Brasil, Côrrea-Ferreira & Oliveira (1998) estocam ovos de *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera; Pentatomidae) por um ano em nitrogênio líquido, com mais de 92% de parasitismo por *Trissolcus basalis* (Wall.). Porém, pesquisas com nitrogênio líquido para produção de *Trichogramma* sp. são inexistentes no Brasil, e as informações disponíveis em outros países sugerem a viabilidade deste método (Greco & Stilinovic 1998).

Os estudos sobre estocagem em baixa temperatura estão limitados a hospedeiros alternativos como *Anagasta kuehniella* Zeller, *Corcyra cephalonica* (Staiton) e *Sitotroga cerealella* (Olivier) (Dass & Ram 1983, Nurindah & Cribb 1997, Jalali *et al* 2007), que apresentam facilidade de criação, alta capacidade reprodutiva e baixo custo de manutenção (Boldt & Marston 1974, Bai *et al* 1992, Hassan 1997, Parra 1997, Takada *et al* 2001, Brotodjojo & Walter 2006). No entanto, apesar do custo reduzido de produção, os parasitóides produzidos são menos longevos, possuem menor capacidade de busca e reduzida fecundidade (Salt 1940 *apud* Boldt & Marston 1974, Marston & Ertle 1973, Waage & Ming 1984, Nurindah *et al* 1999). Outras espécies de hospedeiros alternativos podem produzir parasitóides maiores devido ao maior volume de seus ovos resultando em indivíduos mais longevos e com grande capacidade reprodutiva (Boldt & Marston 1974, Bai *et al* 1992). Os ovos de *Pseudaletia sequax* Franclemont apresentam

tais características e já se mostraram viáveis aos métodos de estocagem em baixa temperatura (Avanci 2004). Portanto, *P. sequax* pode representar uma alternativa na produção de massa de espécies de *Trichogramma* com longevidade e capacidade reprodutiva elevadas.

O presente estudo teve como objetivo avaliar a biologia e exigências térmicas de *T. pretiosum*, *T. atopovirilia* e *T. acacioi* em ovos de *T. ni*, bem como testar os métodos de estocagem de ovos de *P. sequax* em refrigerador e nitrogênio líquido visando a produção massal de *T. pretiosum* e *T. atopovirilia*.

REFERÊNCIAS

- Avanci M R F (2004)** Espécies de *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) que ocorrem em ovos de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) no sudeste do Paraná: parasitismo natural, bioecologia, exigências térmicas e estocagem em baixas temperaturas. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 116p.
- Bai B, Luck R F, Forster L, Stephens B (1992)** The effect of host size on quality attributes of the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum*. Entomol Exp Appl 64: 37-48.
- Barros R, Albert Junior I B, Oliveira A J, Souza A C F, Lopes V (1993)** Controle químico da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em repolho. An Soc Entomol Bras 22: 463-469.
- Boldt P E, Marston N (1974)** Eggs of the greater wax moth as a host for *Trichogramma*. Biol Control Insects Res 3: 545-548.
- Brotodjojo R R R, Walter G H (2006)** Oviposition and reproductive performance of a generalist parasitoid (*Trichogramma pretiosum*) exposed to host species that differ in their physical characteristics. Biol Control 39: 300-312.
- Butler G D, Lopez J D (1980)** *Trichogramma pretiosum*. Development in two hosts in relation to constant and fluctuating temperatures. Ann Entomol Soc Am 73: 671-673.
- Cañete C L, Foerster L A (2003)** Incidência natural e biologia de *Trichogramma atopovirilia* Oatman e Platner, 1983 (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em ovos de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera, Noctuidae). Rev Bras Entomol 47: 201-204.
- Capinera J L (2001)** Handbook of Vegetable Pests. Academic Press, San Diego. 729 p.
- Carballo M V, Hernández M, Quezada J R (1989)** Efecto de los insecticidas y de las malezas sobre *Plutella xylostella* (L.) y su parasitoide *Diadegma insulare* (Cresson) en el cultivo de repollo. Man Int Plagas 11: 1-20.
- Castelo Branco M, França F H, Medeiros M A, Leal J G T (2001)** Uso de inseticidas para o controle da traça-do-tomateiro e traça-das-crucíferas: um estudo de caso. Hort Bras 19: 60-63.
- Castelo Branco M, Amaral P S T (2002)** Inseticidas para controle da traça-das-crucíferas: como os agricultores os utilizam no Distrito Federal? Hort Bras 20: 410-415.

- Chen W-L, Leopold R A, Boetel M A (2008)** Cold Storage of Adult *Gonatocerus ashmeadi* (Hymenoptera : Mymaridae) and effects on maternal and progeny fitness. J Econ Entomol 101: 1760-1770.
- Côrrea – Ferreira B S, Oliveira M C N (1998)** Viability of *Nezara viridula* (L.) eggs for parasitism by *Trissolcus basalis* (Woll.), under different storage techniques in liquid nitrogen. An Soc Entomol Bras 27: 101-107.
- Dass R, Ram A (1983)** Effect of frozen eggs of *Corcyra cephalonica* Staiton (Pyralidae : Lepidoptera) on parasitism by *Trichogramma exiguum* (Pinto and Platneri) (Trichogrammatidae: Hymenoptera). Indian J Entomol 45: 345-347.
- Embrapa (2000)** Disponível no site: <http://www.cnph.embrapa.br/public/textos/index.html>. Culsultado em 19 dez. 2009.
- Embrapa (2004)** Disponível no site: http://www.cnph.embrapa.br/paginas/hortalicas_em_numeros/planilhas_2004/area_colhida_brasil_2004.xls. Consultado em 19 dez. 2009.
- Foerster L A, Avanci M R F (1999)** Egg parasitoids of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) in soybeans. An Soc Entomol Bras 28: 545-548.
- Gallo D, Nakano O, Neto S S, Carvalho R P L, Batista G C, Filho E B, Parra J R P, Zucchi R A, Alves S B, Vendramim J D, Marchini L C, Lopes J R S, Omoto C (2002)** Entomologia agrícola. Piracicaba, FEALQ, 920p.
- Greco C F, Stilinovic D (1998)** Parasitization performance of *Trichogramma* spp. (Hym., Trichogrammatidae) reared on eggs of *Sitotroga cerealella* Oliver (Lep., Gelechiidae), stored at freezing and subfreezing conditions. J Appl Entomol 122: 311-314.
- Haddad M L, Parra J R P, Moraes R C B (1999)** Métodos para estimar os limites térmicos inferior e superior de desenvolvimento de insetos, FEALQ, Piracicaba 29p.
- Hansen L S, Jensen K M V (2002)** Effect of temperature on parasitism and host-feeding of *Trichogramma turkestanica* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). J Econ Entomol 95: 50-56.
- Hassan S A (1997)** Criação da traça do milho, *Sitotroga cerealella*, para a produção massal de *Trichogramma*. p. 151-172. In Parra J R P & Zucchi R A (eds). *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. Piracicaba, FEALQ, 324p.
- Hohmann C L, Luck R F, Oatman E R (1988)** A comparasion of longevity and fecundity of adult *Trichogramma platneri* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared

from eggs of the cabbage looper and the augumouis grain moth, with and without access to honey. J Econ Entomol 81: 1307-1312.

Imenes S D L, Bergmann, E C, Takematsu A P, Hojo H, Campos T B (1990) Influência de inseticidas sobre a população de *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) e seus parasitóides em cultura de tomate (*Lycopersium esculentum*). An Soc Entomol Bras 19: 291-299.

Jalali S K, Singh S P (1992) Differential response of four *Trichogramma* species to low temperatures for short term storage. Entomophaga 37: 159-165.

Jalali S K, Venkatesan T, Murthy K S, Rabindra R J, Lalitha Y (2007) Vacuum packaging of *Corcyra cephalonica* (Staiton) eggs to enhance shelf life for parasitization by the egg parasitoid *Trichogramma chilonis*. Biol Control 41: 64-67.

Krishnaiah K, Mohan N J (1983) Control of cabbage pests by new insecticides. Indian J Entomol 45: 222- 228.

Marston N, Ertle L E (1973) Host influence on the bionomics of *Trichogramma minutum*. Ann Entomol Soc Am 66: 1155-1162.

Martinelli S, Montagna M A, Picinato N C, Silva F M A, Fernandes O A (2003) Eficácia do indoxacarb para o controle de pragas em hortaliças. Hort Bras, 21: 501-505.

Maxwell E M, Fadamiro H Y, McLaughlin J R (2006) Suppression of *Plutella xylostella* and *Trichoplusia ni* in cole crops with attracticide formulations. J Econ Entomol 99: 1334-1344.

McCully J E, Araiza M D S (1990) Seasonal variation in populations insects causing contamination of the principal in processing Broccoli and Cauliflower in Central Mexico. In: Diamondback moth and other crucifer pests. Proceedings of the Second International Workshop, Tainan, Taiwan, 10-14 December.

Metcalf R L, Luckmann W H (1994) Introduction to insect pest management, 650p.

Monnerat R G, Bordat D, Castelo Branco M, França F H (2000) Efeito de *Bacillus thuringiensis* berliner e inseticidas químicos sobre a Traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera:Yponomeutidae) e seus parasitóides. An Soc Entomol Bras 29: 723-729.

Nakano O (1999) As pragas das hortaliças: seu controle e o selo verde. Hort Bras 17: 04-05.

Nurindah G G, Cribb B W (1997) Oviposition behaviour and reproductive performance of *Trichogramma australicum* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared in artificial diet. Aust J Entomol 36: 87-93.

- Nurindah G G, Cribb B W, Gordh G (1999)** Influence of rearing host size acceptance by *Trichogramma australicum*. *BioControl* 44: 129-141.
- Oatman E R, Platner G R (1971)** Biological control of the tomato fruitworm, cabbage looper, and hornworms on processing tomatoes in southern California, using mass releases of *Trichogramma pretiosum*. *J Econ Entomol* 64: 501-506.
- Özder N (2004)** Effect of different cold storage periods on parasitization performance of *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on eggs of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera, Pyralidae). *Biocontrol Sci Technol* 14: 441-447.
- Parra J R P (1992)** Situação atual e perspectivas do controle biológico, através de liberações inundativas no Brasil. *Pesqu Agropecu Bras* 27: 271-279.
- Parra J R P (1997)** Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*, p. 121-150. In Parra J R P & Zucchi R A (eds.), *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. Piracicaba, FEALQ, 324p.
- Pitcher S A, Hoffmann M P, Gardner J, Wright M G, Kuhar T P (2002)** Cold storage of *Trichogramma ostriniae* reared on *Sitotroga cerealella* eggs. *BioControl* 47: 525-535.
- Rajakulendran S V, Plapp F W (1982)** Comparative toxicities of five synthetic pyrethroids to the tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae), an ichneumonid parasite, *Campoletis sonorensis*, and a predator, *Chrysopa carnea*. *J Econ Entomol* 75: 769-772.
- Reis P R, Souza J C (1996)** Controle da broca-pequena, *Neoleucinodes elegantalis* (Guenée, 1854) (Lepidoptera, Pyralidae), com inseticidas fisiológicos em tomateiro estaqueado. *An Soc Entomol Bras*, 25: 65-69.
- Rundle B J, Thomson L J, Hoffmann A A (2004)** Effects of cold storage on field and laboratory performance of *Trichogramma carverae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and the response of three *Trichogramma* spp. (*T. carverae*, *T. nr. brassicae*, and *T. funiculatum*) to cold. *J Econ Entomol* 97: 213-221.
- Scholler M, Hassan S A (2001)** Comparative biology and life tables of *Trichogramma evanescens* and *T. cacoeciae* with *Ephestia elutella* as host at four temperatures. *Entomol Exp Appl* 98: 35-40.
- Silva C A D (2000)** Microorganismos entomopatogênicos associados a insetos e ácaros do algodoeiro. Documentos. Campina Grande: EMBRAPA – CNPA, 77, 45p.

- Silva V C A, Barros R, Marques E J, Torres J B (2003)** Suscetibilidade de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) aos fungos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. Neotrop Entomol 32: 653-658.
- Smith S M (1996)** Biological control with *Trichogramma*: advances, successes, and potential of their use. Ann Rev Entomol 41: 375-406.
- Soo Hoo C R, Coudriet D L, Vail P V (1984)** *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae) larval development on wild and cultivated plants. Environ Entomol 13: 843-846.
- Stinner R E, Ridgway R L, Kinzer R E (1974)** Storage, manipulation of emergence, and estimation of numbers of *Trichogramma pretiosum*. Environ Entomol 3: 504-507.
- Takada Y, Kawamura S, Tanaka T (2001)** Host preference of *Trichogramma dendrolimi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on its native host, *Mamestra brassicae* (Lepidoptera: Noctuidae) after 12 continuous generations on a factitious host. Appl Entomol Zool 36: 231-218.
- Tezze A A, Botto E N (2004)** Effect of cold storage on the quality of *Trichogramma nerudai* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Biol Control 30: 11-16.
- Van Driesche R G, Bellows Jr T S (1996)** Biological control. New York, Chapman & Hall, 539p.
- Van Lenteren J C, Bueno V H P (2003)** Augmentative biological control of arthropods in Latin America. BioControl 48: 123-139.
- Van Schelt J, Ravensberg W J (1990)** Some aspects on the storage and application of *Trichogramma maidis* in corn. In: International Symposium on *Trichogramma* and Other Egg Parasitoids, 3., San Antonio. Paris: INRA, 1991. p.239-242. (Les Colloques de l'INRA, 56).
- Villas Bôas G L, Castelo Branco M, Medeiros M A, Monnerat R G, França F H (2004)** Inseticidas para o controle da traça-das-crucíferas e impactos sobre a população natural de parasitóides. Hort Bras 22: 696-699.
- Waage J K, Ming N G S (1984)** The reproductive strategy of a parasitic wasp. I. Optimal progeny and sex allocation in *Trichogramma evanescens*. J Anim Ecol 53: 401-415.

CAPÍTULO I

EXIGÊNCIAS TÉRMICAS E INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA SOBRE A BIOLOGIA DE TRÊS ESPÉCIES DE *TRICHOGRAMMA* SP. (HYMENOPTERA; TRICHOGRAMMATIDAE) EM OVOS DE *TRICHOPLUSIA NI* (LEPIDOPTERA; NOCTUIDAE)

RESUMO

A lagarta *Trichoplusia ni* (Hübner) é considerada uma praga secundária de olerícolas cuja incidência vem aumentando recentemente. Parasitóides do gênero *Trichogramma* Westwood são descritos como inimigos naturais desta espécie, e se constituem em uma alternativa para o controle e manejo dessa espécie. Avaliou-se o efeito de diferentes temperaturas sobre o tempo de desenvolvimento, porcentagem de parasitismo e emergência, número de parasitóides por ovo, razão sexual e longevidade de *Trichogramma pretiosum* Riley, *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner e *Trichogramma acacioi* Brun, Moraes & Soares em ovos de *T. ni*. Ovos do hospedeiro foram parasitados nas temperaturas de 15, 20, 25 e 30 ± 1°C por 24h, com fotofase de 12h e umidade relativa de 70 ± 10%. As três espécies parasitaram e se desenvolveram em ovos de *T. ni* sob diferentes temperaturas. A temperatura afetou a porcentagem de parasitismo e emergência. O percentual de parasitismo variou de 19,1 a 90,3% e a porcentagem de emergência de 79,5 a 99,5%, sendo obtida uma média ao redor de 1,2 a 1,9 parasitóides por ovo. Não houve parasitismo por *T. acacioi* à 30°C. A razão sexual se manteve entre 0,59 e 0,85. A longevidade de machos e fêmeas foi inversamente proporcional a temperatura em *T. pretiosum* e *T. acacioi*, porém, em *T. atopovirilia*, a longevidade foi mais alta a 25°C do que a 20°C. *T. pretiosum* apresentou constante térmica de 134,6 graus-dia e T₀ de 10,6°C, em *T. atopovirilia* a constante térmica foi de 130,1 graus-dia com T₀ de 11,2°C e em *T. acacioi* foi obtida constante térmica de 153,76 graus-dia com T₀ de 9,88°C.

Palavras-chave: Controle biológico, lagarta falsa-medideira, crucíferas, parasitóides de ovos.

ABSTRACT

The cabbage looper *Trichoplusia ni* (Hübner) is a secondary pest of Brassicaceae and its incidence has increased in recent years. Parasitoids of the genus *Trichogramma* Westwood are described as natural enemies of this pest and can thus be an alternative for its control. The objective of this study was to evaluate the effect of different temperatures on the development time, percentage of parasitism and emergence, number of parasitoids per host egg and sexual ratio of *Trichogramma pretiosum* Riley, *Trichogramma atopovirilia* Oatman and Platner *Trichogramma acacioi* Brun, Moraes e Soares parasitizing eggs of *T. ni*. Host eggs were parasitized at 15, 20, 25 and 30°C ± 1°C

for 24 hours, photophase of 12h and relative humidity of $70 \pm 10\%$. All three species were able to parasitize and develop on eggs of *T. ni* in the range of temperatures evaluated, except *T. acacioi* at 30°C. Temperature affected the percentage of parasitism and adult emergence. Percentage of parasitism ranged from 19.1 to 90.3% and percentage of adult emergence varied from 79.5 to 99.5%, with a mean of 1.2 to 1.9 parasitoids per egg. Females of *T. acacioi* did not parasitize *T. ni* eggs at 30°C. The sex ratio ranged from 0.59 to 0.85. In *T. pretiosum* and *T. acacioi*, the longevity of males and females was inversely proportional to temperature, whereas in *T. atopovirilia* the longevity was highest at 25°C than 20°C. The thermal constant (K) for *T. pretiosum* was 134.6 day-degrees and the lower threshold temperature (T_0) was 10.6°C. For *T. atopovirilia* the value of K was 130.1 day-degrees and T_0 was calculated at 11.2°C. And for *T. acacioi* the value of K was 153-76 day-degrees and T_0 was 9,88°C.

Key words: Biological control, cabbage looper, cruciferous, egg parasitoids.

INTRODUÇÃO

A lagarta falsa-medideira *Trichoplusia ni* (Hübner) é uma espécie polífaga, considerada a segunda principal praga de crucíferas, responsável por danos diretos às folhas e por grandes perdas na agricultura (Maxwell *et al* 2006). *T. ni* é descrita como uma espécie de ocorrência errática, com elevada abundância em alguns anos, e escassez em outros (Capinera 2001), por isso são necessários estudos de controle preventivo da espécie (Maxwell *et al* 2006).

Descritos como um dos inimigos naturais de *T. ni*, os parasitóides de ovos do gênero *Trichogramma* Westwood (Oatman & Platner 1971, Butler & Lopez 1980), vêm sendo utilizados mundialmente em liberações inundativas para o controle de lepidópteros-praga, (Parra *et al* 1987, Bai *et al* 1992, Capinera 2001, Lundgren *et al* 2002, Van Lenteren & Bueno 2003). Progressos recentes nos métodos de criação massal e tecnologia de liberação em campo têm potencializado o uso deste parasitóide (Curl & Burbutis 1977, Butler & Lopez 1980, Jalali & Singh 1992, Jalali *et al* 2007). Assim, o conhecimento do ciclo biológico de espécies de *Trichogramma* é fundamental para sua produção e determinação de sua eficácia no controle de pragas (Butler & Lopez 1980, Bouchier & Smith 1996). O ciclo de vida do parasitóide, bem como sua capacidade de parasitismo diferem entre espécies e podem variar de acordo com a temperatura e espécie hospedeira (Hassan 1997, Scholler & Hassan 2001). Sendo a temperatura um

fator abiótico importante para o desenvolvimento e eficiência dos parasitóides em campo, faz-se necessária a compreensão detalhada da relação entre temperatura, espécie hospedeira e desenvolvimento de *Trichogramma* spp. (Butler & Lopez 1980, Haddad *et al* 1999).

Pesquisas com *Trichogramma pretiosum* Riley em ovos de *T. ni* foram realizadas por Oatman & Platner (1971) e Butler & Lopez (1980), porém, não se conhece o potencial de espécies de *Trichogramma* que ocorrem no sul do Brasil no controle de *T. ni*. As espécies *Trichogramma atopovirilia* Oatman e Platner e *Trichogramma acacioi* Brun, Moraes e Soares são abundantes em cultivos de milho e soja no sul do país (Foerster & Avanci 1999, Cañete & Foerster 2003) e podem ser potenciais agentes de controle de *T. ni*, o que justifica a avaliação biológica destes parasitóides em ovos deste hospedeiro.

Dada a relevância da influência da temperatura nos parâmetros biológicos de *Trichogramma* spp. e a ocorrência crescente de *T. ni* em culturas de brássicas, o presente trabalho objetivou avaliar aspectos biológicos e as exigências térmicas de *T. pretiosum*, *T. atopovirilia* e *T. acacoi* em ovos de *T. ni*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Controle Integrado de Insetos (LCII) da Universidade Federal do Paraná.

CRIAÇÃO DE *TRICHOPLUSIA NI* – Os espécimes utilizados foram obtidos a partir de criação permanente mantida no LCII desde 2007, quando lagartas foram coletadas em cultivo comercial de brócolis e couve-flor no município de Colombo (25° 17' 31'' S, 49° 13' 26''W). Durante a fase larval, as lagartas foram mantidas em placas de petri (18 cm de diâmetro) contendo um disco de papel absorvente e folhas de brócolis. As pupas foram transferidas para recipientes plásticos de 250 ml com 12 cm de diâmetro por 5 cm de altura até a emergência dos adultos, os quais foram mantidos em temperatura ambiente em gaiola de vidro de 45 x 33 x 35 cm, com as paredes laterais revestidas por placas de acrílico. A gaiola possuía aberturas laterais recobertas com tela para ventilação e abertura superior para a manipulação em seu interior. Os adultos eram alimentados com mel diluído em água a 10%, embebido em algodão mantido em placas de petri de 15 cm de diâmetro. No interior da gaiola era fornecida uma folha de brócolis

ou couve-flor, com a finalidade de estímulo e substrato para oviposição. Os ovos depositados na folha eram retirados com auxílio de pincel fino e os ovos colocados nas placas de acrílico eram lavados e peneirados em malha fina, em seguida transferidos para placas de petri com 15 cm de diâmetro e depositados em câmara climatizada à $20 \pm 1^\circ\text{C}$ com umidade relativa de $70 \pm 10\%$. A manutenção da gaiola era realizada três vezes por semana em dias alternados.

CRIAÇÃO DE *TRICHOGRAMMA* SPP. – Os parasitóides *T. pretiosum*, *T. atopovirilia* e *T. acacioi* foram mantidos no LCII a partir de uma criação iniciada em 1997 de ovos parasitados de *Anticarsia gemmatalis* Hübner em culturas de soja situadas na região metropolitana de Curitiba, com coletas periódicas de novos indivíduos para renovação da colônia. A criação é mantida desde 2004 em ovos de *Pseudaletia sequax* Franclemont. Os insetos foram mantidos em câmara climatizada com temperatura constante de 20°C , fotofase de 12h e umidade relativa de $70\% \pm 10\%$. Durante todo o ciclo de vida, os parasitóides foram mantidos em tubos de ensaio de 1,5x12 cm. A alimentação constituiu-se de mel puro depositado em filetes no interior do tubo com auxílio de um pincel fino. Três vezes por semana, cerca de 500 ovos de *P. sequax* eram ofertados ao parasitismo para cada uma das espécies de *Trichogramma*.

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA - Os experimentos foram realizados em câmaras climatizadas com temperaturas constantes de 15, 20, 25 e $30 \pm 1^\circ\text{C}$, fotofase de 12h e umidade relativa de $70\% \pm 10\%$. Para cada uma das três espécies, foram realizadas 20 repetições em cada temperatura, com 20 ovos de *T. ni* de até 24h de idade colados em cartelas de papel e expostos à luz ultravioleta por 30 minutos para esterilização. As cartelas foram ofertadas a uma fêmea de cada uma das três espécies de *Trichogramma* em tubos de ensaio (1x7 cm) contendo filetes de mel puro por 24h, na temperatura correspondente ao tratamento. O desenvolvimento ocorreu na mesma temperatura de oviposição. Os ovos foram considerados parasitados quando apresentavam uma coloração preta, adquirida quando os parasitóides entram no estágio de pupa (Knutson, 1998). Os ovos parasitados e os parasitóides emergidos foram contados com auxílio de microscópio estereoscópico, obtendo-se a porcentagem de ovos parasitados e emergência dos adultos. A partir do número total de parasitóides emergidos dividido pelo número de ovos parasitados, obteve-se o número médio de parasitóides emergidos por ovo. O experimento foi acompanhado diariamente para fornecimento de alimento

aos adultos emergidos e verificação de mortalidade, obtendo-se desta forma, dados de longevidade. Os insetos mortos foram retirados do recipiente e sexados através do dimorfismo apresentado pelas antenas (Bowen & Stern 1966), e assim obtidos os dados de razão sexual.

ANÁLISE ESTATÍSTICA - Os dados de parasitismo e emergência foram submetidos à ANOVA fatorial tomando-se como fontes de variação a temperatura e a espécie (4x3). Todos os parâmetros foram submetidos à ANOVA dentro de cada uma das espécies avaliadas e as comparações estatísticas entre as médias foram realizadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste Shapiro-Wilk. Os dados de desenvolvimento e razão sexual nas três espécies estudadas foram transformados pela fórmula $(x+0,5)^{1/2}$. O efeito da temperatura na taxa de desenvolvimento, da oviposição até a emergência de adultos, foi avaliado por regressão linear usando o modelo $Y = a + bX$, onde Y é a taxa de desenvolvimento (1/tempo de desenvolvimento), X é a temperatura e a e b são os parâmetros obtidos da regressão. A temperatura base (T_0) e a constante térmica K em graus-dia foram estimadas usando as fórmulas: $T_0 = -a/b$, e $K = 1/b$, de acordo com Campbell *et al* 1974.

RESULTADOS

A porcentagem de parasitismo foi significativamente influenciada pela temperatura, espécie e pela interação entre estes dois fatores (Tabela 1). Considerando todos os tratamentos realizados, o percentual de parasitismo variou de 19,1 a 90,3% com ovos parasitados por *T. pretiosum* a 15°C e *T. atopovirilia* a 25°C respectivamente (Tabela 3). *T. pretiosum* e *T. atopovirilia* apresentaram parasitismo acima de 70% nas temperaturas de 20 e 25°C, enquanto que *T. acacioi* apresentou a maior porcentagem de parasitismo na temperatura de 25°C; entretanto, esta espécie não parasitou a 30°C. (Tabela 3). Quando comparados todos os tratamentos entre as espécies, não houve diferença significativa na porcentagem de parasitismo a 20 e 25°C, com exceção de *T. acacioi* que parasitou significativamente menos à 20°C que as outras duas espécies. A temperatura influenciou a porcentagem de emergência de *T. atopovirilia* a 30°C, que embora acima de 80%, foi significativamente inferior à obtida a 25°C. (Tabelas 1, 2 e 3). *T. pretiosum* e *T. acacioi* não tiveram o percentual de emergência afetado pela temperatura (Tabelas 2 e 3).

Tabela 1: Análise de variância dos fatores de temperatura e espécie sobre a porcentagem de parasitismo e emergência de *Trichogramma pretiosum*, *Trichogramma atopovirilia* e *Trichogramma acacioi*.

Parâmetro	Fonte de Variação	GL	F	P
% Parasitismo	Temperatura	2	55.42	0.00
	Espécie	2	11.73	0.00
	Temperatura/Espécie	4	2.52	0.04
% Emergência	Temperatura	2	3.78	0.03
	Espécie	2	2.18	0.12
	Temperatura/Espécie	4	0.95	0.44

Significativo (p<0,05)

A análise de variância evidenciou o efeito da temperatura sobre os parâmetros avaliados em cada uma das espécies quando estudadas separadamente (Tabela 2). Em todas elas o tempo de desenvolvimento foi inversamente proporcional à temperatura (Tabela 3).

T. atopovirilia e *T. acacioi* não apresentaram diferenças estatísticas quanto ao número de parasitóides emergidos por ovo nas temperaturas testadas. Porém, *T. pretiosum* a 15°C apresentou média de parasitóides obtidos por ovo inferior às temperaturas de 20 e 25°C (Tabela 4). A razão sexual foi estatisticamente igual em todas as temperaturas para as três espécies estudadas (Tabela 4). Os valores da temperatura base (T_0) e a constante térmica (K) de *T. pretiosum*, *T. atopovirilia* e *T. acacioi*, bem como as equações de regressão da taxa de desenvolvimento estão apresentados nas Figuras 1, 2 e 3. As equações apresentaram um coeficiente de correlação de 0,99 indicando que o conjunto de dados das taxas de desenvolvimento nas temperaturas avaliadas foi altamente satisfatório.

Tabela 2: Análise de variância sobre o tempo de desenvolvimento, porcentagem de parasitismo, porcentagem de emergência, número de parasitóides/ovo, razão sexual, longevidade de fêmeas e longevidade de machos em *Trichogramma pretiosum*, *Trichogramma atopovirilia* e *Trichogramma acacioi*.

Espécie	Parâmetros	GL	F	P
<i>T. pretiosum</i>	Desenvolvimento	3	21439.8	0.00
	Parasitismo	3	18.61	0.00
	Emergência	3	1.76	0.16
	Parasitóides/ovo	3	6.83	0.00
	Razão sexual	3	0.95	0.42
<i>T. atopovirilia</i>	Desenvolvimento	3	18439.0	0.00
	Parasitismo	3	8.33	0.00
	Emergência	3	2.79	0.05
	Parasitóides/ovo	3	0.74	0.54
	Razão sexual	3	0.64	0.60
<i>T. acacioi</i>	Desenvolvimento	2	15367.3	0.00
	Parasitismo	2	15.50	0.00
	Emergência	2	2.99	0.06
	Parasitóides/ovo	2	0.92	0.41
	Razão sexual	2	1.75	0.19

Significativo (p<0,05)

A longevidade de machos e fêmeas foi inversamente proporcional a temperatura em *T. pretiosum* e *T. acacioi*. Porém, em *T. atopovirilia*, a longevidade de machos e fêmeas na temperatura de 20°C foi inferior à de 25°C (Tabela 4).

Tabela 3: Média (\pm EP) do tempo de desenvolvimento, porcentagem de parasitismo e porcentagem de emergência de *Trichogramma pretiosum*, *Trichogramma atopovirilia* e *Trichogramma acacioi* em diferentes temperaturas.

Espécie	Temperatura (°C)	Desenvolvimento (dias)	%Parasitismo	% Emergência
<i>T. pretiosum</i>	15	28.83 \pm 0.09 a	19.10 \pm 2.76 bD	84.42 \pm 6.60 aA
	20	15.61 \pm 0.12 b	70.50 \pm 7.61 aAB	83.07 \pm 8.50 aA
	25	9.00 \pm 0.00 c	72.75 \pm 6.07 aAB	99.45 \pm 0.38 aA
	30	7.00 \pm 0.00 d	59.09 \pm 6.16 aBC	79.52 \pm 7.49 aA
<i>T. atopovirilia</i>	15	32.47 \pm 0.15 a	46.25 \pm 7.57 cBCD	96.51 \pm 1.66 abA
	20	15.87 \pm 0.09 b	74.00 \pm 8.24 abAB	95.97 \pm 3.61 abA
	25	9.00 \pm 0.00 c	90.25 \pm 1.17 aA	98.68 \pm 1.32 aA
	30	7.00 \pm 0.00 d	60.00 \pm 8.11 bcBC	82.09 \pm 8.28 bA
<i>T. acacioi</i>	15	28.60 \pm 0.13 a	25.53 \pm 4.17 bD	95.04 \pm 3.14 aA
	20	16.00 \pm 0.00 b	42.10 \pm 6.91 bCD	85.83 \pm 5.74 aA
	25	10.00 \pm 0.00 c	74.11 \pm 7.21 aAB	98.54 \pm 1.14 aA
	30	-	-	-

As médias acompanhadas pelas mesmas letras minúsculas, que se referem à comparação entre os tratamentos de uma mesma espécie, e acompanhadas pelas mesmas letras maiúsculas, que se referem à comparação de todos os tratamentos tendo como fonte de variação temperatura e espécie, não diferiram pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 4: Média (\pm EP) do número de parasitóides por ovo e razão sexual, longevidade (dias) de fêmeas e longevidade de machos de *Trichogramma pretiosum*, *Trichogramma atopovirilia* e *Trichogramma acacioi* em diferentes temperaturas.

Espécie	Temperatura (°C)	Parasitóides/Ovo	Razão Sexual	Longevidade ♀	Longevidade ♂
<i>T. pretiosum</i>	15	1.19 \pm 0.14 b	0.66 \pm 0.07 a	19.7 \pm 1.22 a	15.7 \pm 1.07 a
	20	1.88 \pm 0.10 a	0.59 \pm 0.09 a	9.5 \pm 1.44 b	10.1 \pm 1.81 b
	25	1.64 \pm 0.08 a	0.75 \pm 0.05 a	12.1 \pm 0.85 b	9.6 \pm 0.71 b
	30	1.55 \pm 0.10 ab	0.68 \pm 0.06 a	2.3 \pm 0.18 c	2.3 \pm 0.24 c
<i>T. atopovirilia</i>	15	1.55 \pm 0.08 a	0.85 \pm 0.02 a	22.2 \pm 0.63 a	16.6 \pm 0.96 a
	20	1.73 \pm 0.09 a	0.77 \pm 0.07 a	8.2 \pm 1.97 c	7.3 \pm 1.67 c
	25	1.70 \pm 0.09 a	0.81 \pm 0.03 a	13.6 \pm 0.73 b	11.2 \pm 0.65 b
	30	1.67 \pm 0.09 a	0.82 \pm 0.03 a	4.4 \pm 0.49 c	4.0 \pm 0.44 c
<i>T. acacioi</i>	15	1.37 \pm 0.14 a	0.60 \pm 0.06 a	16.3 \pm 0.62 a	12.1 \pm 0.81 a
	20	1.29 \pm 0.09 a	0.54 \pm 0.08 a	9.4 \pm 1.01 b	9.3 \pm 0.81 b
	25	1.51 \pm 0.08 a	0.73 \pm 0.07 a	6.2 \pm 0.16 c	6.5 \pm 0.22 c
	30	-	-	-	-

As médias acompanhadas pelas mesmas letras, que se referem à comparação entre os tratamentos de uma mesma espécie, não diferiram pelo teste Tukey ($p < 0,05$)

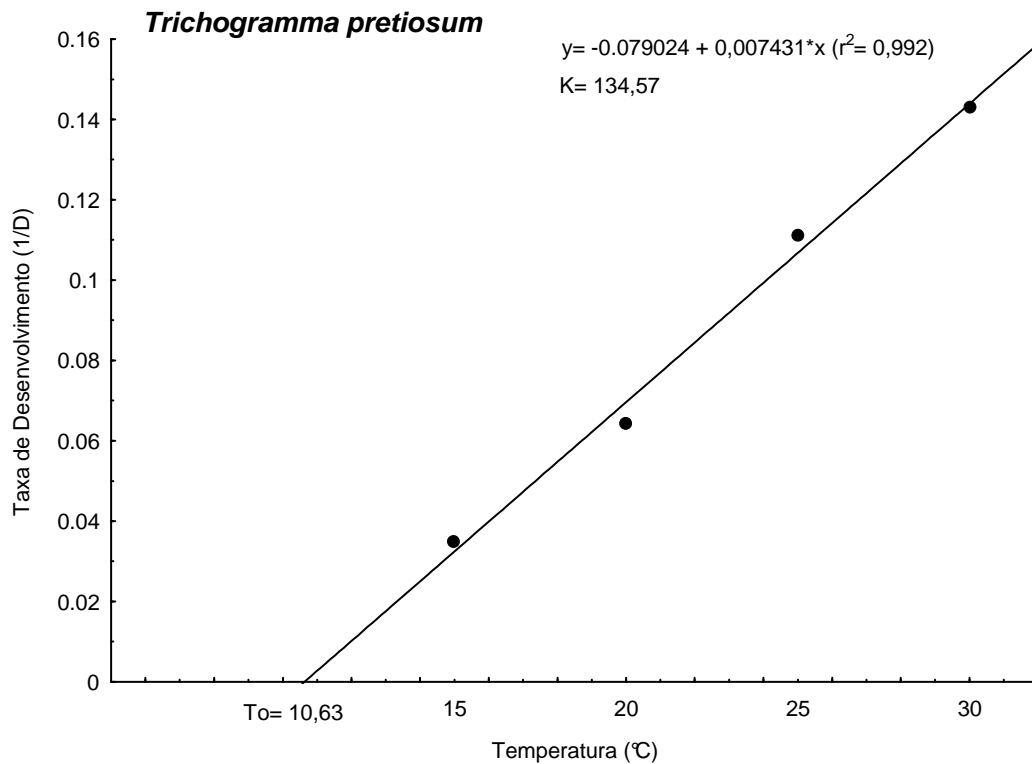


Figura 1: Equação da regressão linear na taxa de desenvolvimento (1/D) de *Trichogramma pretiosum* criado em ovos de *Trichoplusia ni*.

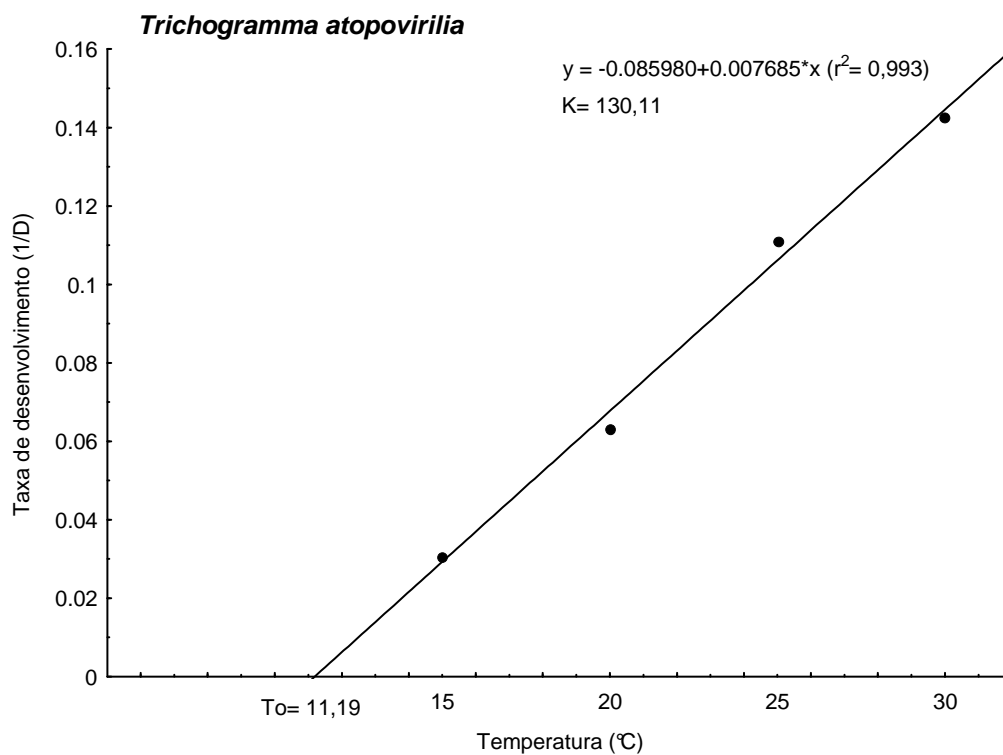


Figura 3: Equação da regressão linear na taxa de desenvolvimento (1/D) de *Trichogramma atopovirilia* criado em ovos de *Trichoplusia ni*.

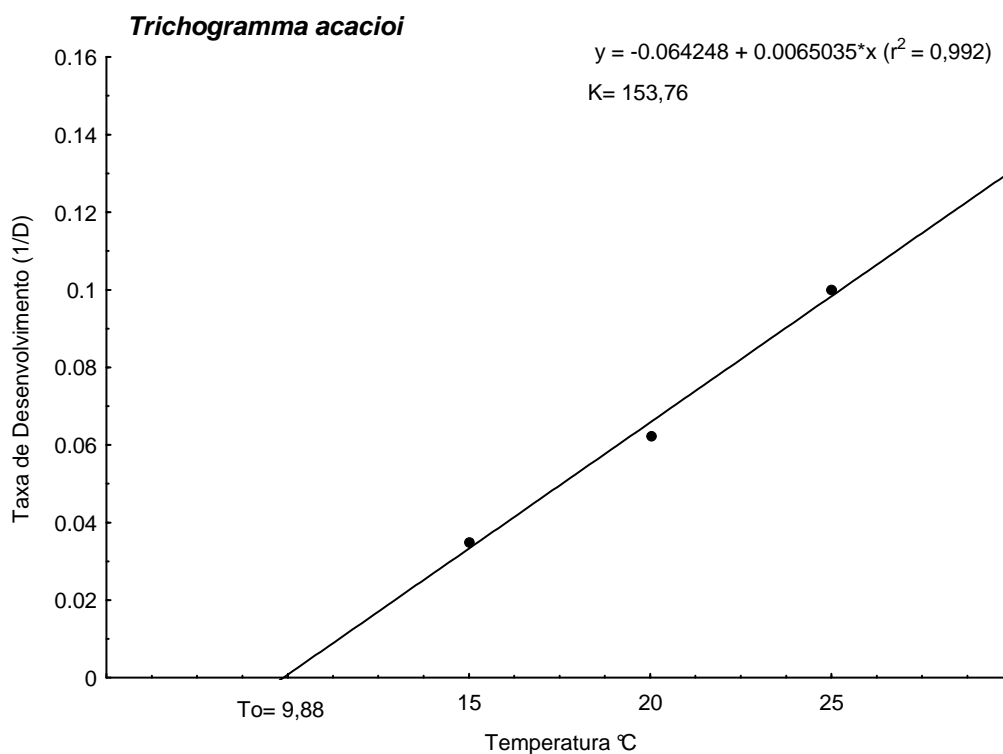


Figura 2: Equação da regressão linear na taxa de desenvolvimento (1/D) de *Trichogramma acacioi* criado em ovos de *Trichoplusia ni*.

DISCUSSÃO

Os parâmetros avaliados no presente estudo foram significativamente afetados pela temperatura, demonstrando que este é um fator que influencia o desempenho de *T. pretiosum*, *T. atopovirilia* e *T. acacioi*.

Conforme já demonstrado para espécies de *Trichogramma* em trabalhos anteriores, o tempo de desenvolvimento aumentou com a redução da temperatura de forma linear (Figuras 1 e 2) (Harrison *et al* 1985, Cônsoli & Parra 1995, Hohmann & Luck 2000, Pratisoli & Parra 2000, Pratisoli *et al* 2005, Melo *et al* 2007, Bueno *et al* 2009, Foerster & Foerster 2009). Dados semelhantes ao do presente estudo quanto ao tempo de desenvolvimento foram obtidos por Foerster & Foerster (2009), quando avaliaram o efeito da temperatura em *T. pretiosum*, *T. atopovirilia*, *T. acacioi*, *Trichogramma lasallei* Pinto e *Trichogramma rojasi* Nagaraja & Nagarkatti em ovos de *Anticarsia gemmatalis* Hübner. Os dados do presente trabalho também corroboraram aqueles obtidos por Bueno *et al* (2009) que avaliaram as exigências térmicas de *T. pretiosum* em ovos de *Pseudoplusia includens* (Walker 1857) e *A. gemmatalis* em sete

temperaturas, e observaram períodos de desenvolvimento dos parasitóides muito semelhantes aos constatados no presente estudo.

Cônsoli & Parra (1995) verificaram que a 18°C, *Trichogramma galloi* Zucchi apresentou tempo de desenvolvimento significativamente superior as demais temperaturas testadas pelos autores em ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius). As espécies avaliadas no presente estudo não cessam seu desenvolvimento a 15°C, mas têm seu desenvolvimento prolongado. Esses dados corroboram os dados obtidos por Rundle & Hoffmann (2003) que afirmam que espécies de *Trichogramma* não hibernam e não entram em diapausa em temperaturas mais baixas, mas baixam sua taxa de desenvolvimento durante os períodos mais frios no ano. Sendo assim, as três espécies apresentam potencial para controle de *T. ni*, pois não cessam seu desenvolvimento mesmo em épocas do ano com temperaturas mais baixas, uma vez que brássicas são plantadas durante o ano todo no sudeste do Paraná. Por outro lado, a diminuição do tempo de desenvolvimento com o aumento da temperatura pode ser consequência do aumento da atividade metabólica do parasitóide (Bueno *et al* 2009).

No presente trabalho, os percentuais de parasitismo acima de 70% para *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* foram registrados nas temperaturas de 20 e 25°C, e apenas a 25°C para *T. acacioi*. Resultados semelhantes foram obtidos por Harrison *et al* (1985), que observaram as melhores taxas de parasitismo também à 20 e 25°C para *T. pretiosum* criados em ovos de *Heliothis virescens* (Fabricius). Maceda *et al* (2003) obtiveram percentuais mais altos de parasitismo para *T. pretiosum* e *Trichogramma annulata* De Santis nas temperaturas de 25 e 30°C em ovos de *Anagasta kuehniella* Zeller. Estas diferenças podem ser atribuídas a uma adaptação à temperatura em que o parasitóide foi criado anteriormente, pois, tanto no presente estudo quanto em estudos anteriores, os melhores percentuais de parasitismo foram obtidos nas temperaturas em que os parasitóides eram criados inicialmente ou uma temperatura próxima desta.

Segundo Kalyebi *et al* (2005), o número de ovos parasitados por uma fêmea de *Trichogramma*, é um fator determinante na escolha de uma espécie ou linhagem a ser usada em um programa de controle biológico. Ballal & Singh (2003) avaliaram a eficácia de três espécies de *Trichogramma* com base na fecundidade e Pak & Van Lenteren (1988) mencionaram que espécies e linhagens com bom desempenho em laboratório têm alto potencial para apresentarem um bom desempenho também em campo. No presente estudo, as espécies apresentaram alto percentual de parasitismo nas

temperaturas em que eram originalmente criadas; assim, é possível que, se adaptadas, alcancem bons resultados em outras temperaturas também.

No presente estudo, em ovos de *T. ni*, com exceção de *T. atopovirilia*, a temperatura não influenciou a emergência dos parasitóides. Tais resultados corroboraram àqueles obtidos por Bueno *et al* (2009) com ovos de *A. gemmatalis* e *P. includens* parasitados por *T. pretiosum*, pois os autores verificaram influência negativa da temperatura apenas com o hospedeiro *P. includens* na temperatura de 32°C. Os dados sobre porcentagem de emergência deste trabalho foram semelhantes também aos apresentados por Cònsoli & Parra (1995) para *T. galloi* Zucchi criados em ovos de *D. saccharalis* (Fabricius), porém, os autores reportaram um percentual menor de parasitóides emergidos na temperatura de 18°C. Pratissoli & Parra (2000) reportaram diferenças na emergência de *T. pretiosum* criado em traças do tomateiro, sendo os menores percentuais registrados nas temperaturas extremas, tanto baixas quanto altas. Inoue & Parra (1998) observaram percentuais mais altos de emergência de *T. pretiosum* em ovos de *Sitotroga cerealella* (Olivier) em temperaturas superiores a 22°C. Essas variações na porcentagem de emergência dos parasitóides em relação à temperatura podem ser consequência do tamanho e qualidade do ovo hospedeiro, pois ovos menores podem ser metabolicamente restritos para o suprimento de nutrientes (Klomp & Teerink 1962, Barrett & Smith 1991 *appud* Bai *et al* 1992). Sendo assim, volume e qualidade do ovo hospedeiro poderiam ser os fatores responsáveis pela diminuição na emergência de parasitóides em temperaturas extremas. Os altos valores obtidos no percentual de emergência dos parasitóides do presente estudo indicam o potencial de *Trichogramma* para o controle de *T. ni* em regiões com climas distintos.

Os parasitóides do gênero *Trichogramma* são gregários facultativos. A emergência de mais de um parasitóide por ovo, como no presente estudo, é bastante comum e tem sido reportada por vários autores (Peterson 1931, Bai *et al* 1992, Kazmer & Luck 1995, Pratissoli & Parra 2000, Melo *et al* 2007, Bueno *et al* 2009). A redução no número de parasitóides emergidos na temperatura de 15°C em *T. pretiosum* pode ser consequência da mortalidade que ocorre dentro do ovo devido à competição por nutrientes (Bueno *et al* 2009). Este fenômeno tem sido observado para algumas linhagens de *T. pretiosum* e também para *Telenomus remus* (Nixon) (Dass & Parshad 1983).

As fêmeas de *Trichogramma* são capazes de selecionar os ovos a serem depositados no ovo hospedeiro. Os ovos diplóides (fêmeas) são colocados em

hospedeiros de alta qualidade (tamanho, idade e qualidade nutricional) com objetivo de produzir fêmeas potencialmente reprodutivas, e os ovos haplóides (machos) são destinados a ovos pequenos ou com baixa qualidade nutricional (Clausen 1939, Flanders 1956, Suzuki & Iwasa 1980, Waage & Ming 1984, Luck *et al* 1999, Luck *et al* 2001). No presente estudo, a razão sexual se manteve entre 0,54 e 0,85 e não sofreu influência da temperatura, demonstrando que os ovos de *T. ni* são nutricionalmente satisfatórios, e assim podem possibilitar o parasitismo por *Trichogramma* em campo.

A constante térmica (K), baseada na duração do período de desenvolvimento do parasitóide, sob diferentes temperaturas, a partir da temperatura base (T_0), é definida como a necessidade térmica para o inseto (Pratissoli *et al* 2005). A constante térmica de *T. pretiosum* (134,6 graus-dia) e *T. acacioi* (153,76 graus-dia) foi mais baixa do que a reportada por Foerster & Foerster (2009) para as mesmas espécies criadas em ovos de *A. gemmatalis*. A constante térmica obtida para *T. pretiosum* por Pratissoli *et al* (2005) em ovos de *A. kuehniella* e *S. cerealella* e por Bueno *et al* (2009) em ovos de *P. includens*, também foi mais alta do que a apresentada no presente estudo. Por outro lado, a constante térmica observada para *T. atopovirilia* (130,1graus-dia) foi a mesma encontrada por Melo *et al* (2007) em ovos de *Diaphania hyalinata* L.. A quantidade e qualidade de nutrientes encontrados em cada hospedeiro são altamente responsáveis por estas diferenças, bem como a adaptação do parasitóide a hospedeiros específicos (Bueno *et al* 2009). A nutrição de insetos e sua massa corporal têm sido reportadas como fatores impactantes nos valores da constante térmica (K) e temperatura base (T_0) (Haddad *et al* 1999, Charnov & Gillogy 2003).

As características biológicas e necessidades térmicas de *T. pretiosum*, *T. atopovirilia* e *T. acacioi* em ovos de *T. ni* avaliadas no presente estudo, representam informações importantes para a implementação de planos de controle desta espécie. As três espécies de *Trichogramma* avaliadas são capazes de parasitar e se desenvolver em ovos de *T. ni* em diferentes temperaturas. As espécies estudadas podem permanecer em atividade durante o inverno na região subtropical do país, uma vez que parasitaram ovos mesmo na temperatura mais baixa testada. No entanto, *T. acacioi* demonstrou ser a espécie menos tolerante em temperaturas mais altas.

REFERÊNCIAS

- Bai B, Luck R F, Forster L, Stephens B (1992)** The effect of host size on quality attributes of the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum*. Entomol Exp Appl 64: 37-48.
- Ballal C R, Singh S P (2003)** The effectiveness of *Trichogramma chilonis*, *T. pretiosum* and *T. brasiliense* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) as parasitoid of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on sunflower (*Helianthus annuus*) and Redgram (*Cajanus cajan*). Biocontrol Sci Technol 13: 231-240.
- Bourchier R S, Smith S M (1996)** Influence of environmental conditions and parasitoid quality on field performance of *Trichogramma minutum*. Entomol Exp Appl 80: 461-468.
- Bowen W R, Stern V M (1966)** Effect of temperature on the production of males and sexual mosaics in a uniparental race of *Trichogramma semifumatum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Ann Entomol Soc Am 59: 823-834.
- Bueno R C O F, Parra J R P, Bueno A F (2009)** Biological characteristics and thermal requirements of a brazilian strain of the parasitoid *Trichogramma pretiosum* reared on eggs of *Pseudoplusia includens* and *Anticarsia gemmatalis*. Biol Control 51: 355-361.
- Butler G D, Lopez J D (1980)** *Trichogramma pretiosum*. Development in two hosts in relation to constant and fluctuating temperatures. Ann Entomol Soc Am 73: 671-673.
- Campbell A, Frazer B D, Gutierrez A P, Macknauer A P (1974)** Temperature requirements of some aphids and their parasites. J Appl Ecol 11: 431-438.
- Cañete C L, Foerster L A (2003)** Incidência natural e biologia de *Trichogramma atopovirilia* Oatman e Platner, 1983 (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em ovos de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera, Noctuidae). Rev Bras Entomol 47: 201-204.
- Capinera J L (2001)** Handbook of Vegetable Pests. Academic Press, San Diego. 729 p.
- Charnov E L, Gilloby J F (2003)** Thermal time: body size, food quality and the 10°C rule. Evol Ecol Res 5: 43-51.
- Clausen C P (1939)** The effect of host size upon the sex ratio of hymenopterous parasites and its relation to methods of rearing and colonization. J N Y Entomol Soc 47: 1-9.

- Cônsoli F L, Parra J R P (1995)** Effects of constant and alternating temperatures on *Trichogramma galloi* Zucchi (Hym., Trichogrammatidae) biology. I. Development and thermal requirements. *J Appl Entomol* 119: 415-418.
- Curl G D, Burbutis P P (1977)** The mode of overwintering of *Trichogramma nubilale* Ertle and Davis. *Environ Entomol* 6: 629-632.
- Dass R, Parshad B (1983)** Influence of age of *Spodoptera litura* (Fabricius) egg on parasitization by *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae). *J Entomol Res* 8: 89-92.
- Flanders S E (1956)** The mechanisms of sex-ratio regulation in the (parasitic) Hymenoptera. *Insects sociaux* 3: 325-334.
- Foerster L A, Avanci M R F (1999)** Egg parasitoids of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) in soybeans. *An Soc Entomol Bras* 28: 545-548.
- Foerster M R, Foerster L A (2009)** Effects of temperature on the immature development and emergence of five species of *Trichogramma*. *Biocontrol* 54: 445-450.
- Haddad M L, Parra J R P, Moraes R C B (1999)** Métodos para estimar os limites térmicos inferior e superior de desenvolvimento de insetos, FEALQ, Piracicaba 29p.
- Harrison W W, King E G, Ouzts J D (1985)** Development of *Trichogramma exiguum* and *T. pretiosum* at five temperature regimes. *Environ Entomol* 14: 118-121.
- Hassan S A (1997)** Seleção de espécies de *Trichogramma* para o uso em programas de controle biológico. In: Parra J R P & Zucchi R A (1997) *Trichogramma e o controle biológico aplicado*, FEALQ, Piracicaba 183-206.
- Hohmann C L, Luck R F (2000)** Effect of temperature on the development and thermal requirements of *Walbachia* infected and antibioticly cured *Trichogramma kaykai* Pinto and Stouthamer (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *An Soc Entomol Bras* 29: 497-505.
- Inoue M S R, Parra J R P (1998)** Efeito da temperatura no parasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 sobre ovos de *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819). *Sci Agrícola*, 55: 222-226.
- Jalali S K, Singh S P (1992)** Differential response of four *Trichogramma* species to low temperatures for short term storage. *Entomophaga* 37: 159-165.
- Jalali S K, Venkatesan T, Murthy K S, Rabindra R J, Lalitha Y (2007)** Vacuum packaging of *Corcyra cephalonica* (Staiton) eggs to enhance shelf life for parasitization by the egg parasitoid *Trichogramma chilonis*. *Biol Control* 41: 64-67.

- Kalyebi A, Overholt W A, Schulthess F, Mueke J M, Hassan S A, Sithanantham S (2005)** Functional response of six indigenous trichogrammatid egg parasitoids (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in Kenya: influence of temperature and relative humidity. *Biol Control* 32: 164-171.
- Kazmer D J, Luck R F (1995)** Field tests of size-fitness hypothesis in the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum*. *Ecology* 76: 412-425.
- Klomp H, Teerink B J (1962)** Host selection and number of eggs per oviposition in the parasite *Trichogramma embryophagum* Htg. *Nature* 195: 1020-1021.
- Knutson, A (1998)** The *Trichogramma* Manual. Texas Agriculture Extension Service, Texas A&M University System, College Station, TX.
- Luck R F, Janssen J A M, Pinto J D, Oatman E R (2001)** Precise sex allocation, local mate competition, and sex ratio shifts in the parasitoid wasp *Trichogramma pretiosum*. *Behav Ecol Sociobiol* 49: 311-321.
- Luck R F, Nunney L, Stouthamer R (1999)** Sex ratio and quality in the culturing of parasitic hymenoptera: A genetic and evolutionary perspective. In Bellows T S, Fisher T T W, Caltagirone L E, Handbook of biological control: principles and applications of biological control. Academic Press, pp. 653-652.
- Lundgren J G, Heimpel G E, Bomgren S A (2002)** Comparison of *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) augmentation with organic and synthetic pesticides for control of cruciferous Lepidoptera. *Environ Entomol* 31: 1231-1239.
- Maceda A, Hohmann C L, Santos H R (2003)** Temperature effects on *Trichogramma pretiosum* Riley and *Trichogrammatoidea annulata* De Santis. *Braz Arch Biol Technol* 46: 27-32.
- Maxwell E M, Fadamiro H Y, McLaughlin J R (2006)** Suppression of *Plutella xylostella* and *Trichoplusia ni* in cole crops with attracticide formulations. *J Econ Entomol* 99: 1334-1344.
- Melo R L, Pratissoli D, Polanczyk R A, Melo D F, Barros R, Milanez A M (2007)** Biologia e exigências térmicas de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Diaphania hyalinata* L. (Lepidoptera: Pyralidae). *Neotrop Entomol* 36: 431-435.
- Oatman E R, Platner G R (1971)** Biological control of the tomato fruitworm, cabbage looper, and hornworms on processing tomatoes in southern California, using mass releases of *Trichogramma pretiosum*. *J Econ Entomol* 64: 501-506.

- Pak G A, Van Lenteren J C (1988)** Criteria and methods for the prerelease evaluation of different *Trichogramma* spp. Strains. In: Voegelé J, Waage J, Van Lenteren J C (Eds) *Trichogramma* and other egg parasitoids, Proceedings of 2nd International Symposium on *Trichogramma*, Guangzhou, PR China, Les colloques de l'INRA, Paris 43: 433-442.
- Parra J R P, Zucchi R A, Silveira Neto S (1987)** Biological control of pests through egg parasitoids of the genera *Trichogramma* and/or *Trichogrammatoidea*. Mem Inst Oswaldo Cruz 82: 153-160.
- Peterson A (1931)** Refrigeration of *Trichogramma minutum* Riley and other notes. J Econ Entomol 24: 1070-1074.
- Pratissoli D, Parra J R P (2000)** Desenvolvimento e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley, criados em duas traças do tomateiro. Pesqui Agropecu Bras, 35: 1281-1288.
- Pratissoli D, Zanuncio J C, Vianna U R, Andrade J S, Pinon T B M, Andrade G S (2005)** Thermal requirements of *Trichogramma pretiosum* and *T. acacioi* (Hym.; Trichogrammatidae), parasitoids of the avocado defoliator *Nipteria panacea* (Lep.; Geometridae), in eggs of two alternative hosts. Braz Arch Biol Technol 48: 523-529.
- Rundle B J, Hoffmann A A (2003)** Overwintering of *Trichogramma funiculatum* Carver (Hymenoptera: Trichogrammatidae) under semi-natural conditions. Environ Entomol 32: 290-298.
- Scholler M, Hassan S A (2001)** Comparative biology and life tables of *Trichogramma evanescens* and *T. cacoeciae* with *Ephestia elutella* as host at four temperatures. Entomol Exp Appl 98: 35-40.
- Suzuki Y, Iwasa Y (1980)** A sex ratio theory of gregarious parasitoids. Res Population Ecol 22: 366-382.
- Van Lenteren J C, Bueno V H P (2003)** Augmentative biological control of arthropods in Latin America. BioControl 48: 123-139.
- Waage J K, Ming N G S (1984)** The reproductive strategy of a parasitic wasp. I. Optimal progeny and sex allocation in *Trichogramma evanescens*. J Anim Ecol 53: 401-415.

CAPÍTULO II

**EFEITO DA ESTOCAGEM EM BAIXA TEMPERATURA DE OVOS DE
PSEUDALETIA SEQUAX (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) SOBRE A BIOLOGIA DE
TRICHOGRAMMA PRETIOSUM E *TRICHOGRAMMA ATOPOVIRILIA*
(HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE)**

RESUMO

Os parasitóides de ovos do gênero *Trichogramma* Westwood vêm sendo utilizados em vários países para o controle de lepidópteros-praga. Para um controle eficiente, é necessário que muitos destes insetos sejam liberados no campo e, a estocagem de ovos em baixa temperatura pode representar uma alternativa para a produção massal destes parasitóides. Ovos de *Pseudaletia sequax* Franclemont foram estocados a $4 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa de $70 \pm 10\%$ por 20, 40 ou 60 dias. Após estes períodos iniciais de estocagem, os ovos foram submetidos ao parasitismo por *Trichogramma pretiosum* Riley e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner à $20 \pm 1^\circ\text{C}$, e ao atingirem o estágio de pupa, foram transferidos novamente à temperatura de $4 \pm 1^\circ\text{C}$ por mais 0, 20 ou 40 dias. Os parâmetros avaliados foram porcentagem de parasitismo, número de parasitóides por ovo, razão sexual e longevidade de fêmeas e machos. Os parâmetros sofreram influência do período de pré-parasitismo, período de pós-parasitismo e espécie. O parasitismo variou de 32,3% a 70,3%, sendo obtidos de 0,3 a 1,8 parasitóides por ovo. A razão sexual se manteve entre 0,6 e 0,9. A longevidade de fêmeas variou de 4,6 a 13,2 dias de machos de 4,2 a 13,2 dias. Os resultados demonstraram a viabilidade da estocagem de ovos de *P. sequax* para produção massal de *T. pretiosum* e *T. atopovirilia*.

Palavras-chave: Parasitóides de ovos, controle biológico, lepidópteros-praga

ABSTRACT

Egg parasitoids of the genus *Trichogramma* Westwood are used worldwide for the control of lepidopterous pests. For an efficient control, large quantities of the parasitoid are required for field-release and the storage of host eggs in low temperatures can be a means of mass production of these parasitoids. Eggs of *Pseudaletia sequax* Franclemont (Lepidoptera: Noctuidae) were stored in a refrigerator at $4 \pm 1^\circ\text{C}$ for 0, 20 or 40 days and then exposed to females of *Trichogramma pretiosum* Riley and *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner at $20^\circ \pm 1^\circ\text{C}$. When the parasitoids reached the pupal stage they were returned to the refrigerator for either 0, 20 or 40 days and then transferred to 20°C for adult emergence. Parasitism ranged from 32.3 to 70.3%, with a mean of 0.3 to 1.8 parasitoids/egg. The sex-ratio ranged from 0.6 to 0.9. Longevity was similar between males and females, and ranged from 4.6 to 13.2 days.

The results show that eggs of *P. sequax* can be stored at 4°C for mass production of *Trichogramma* species.

Key words: Egg parasitoids, biological control, lepidopterans-pest

INTRODUÇÃO

Os parasitóides de ovos do gênero *Trichogramma* Westwood, estão entre as espécies mais utilizadas em programas de controle biológico, e vêm sendo empregadas como um importante agente no manejo integrado de lepidópteros-praga que causam danos a plantas cultivadas (Hohmann *et al* 1988, Bai *et al* 1992, Jalali & Singh 1992, Takada *et al* 2001, Hansen & Jensen 2002, Van Lenteren & Bueno 2003, Tezze & Botto 2004). Este fato se deve principalmente à eficiência de parasitismo em campo e a facilidade de sua criação em laboratório (Takada *et al* 2001, Van Lenteren & Bueno 2003).

As liberações em campo destes agentes de controle são realizadas em épocas específicas do ano, no entanto, para que o controle seja eficiente, é preciso que muitos parasitóides sejam liberados (Stinner *et al* 1974, Rundle *et al* 2004). Assim, faz-se necessário o desenvolvimento de estratégias de produção e armazenamento de hospedeiros e parasitóides, visando posteriores liberações massais (Van Schelt & Ravensberg 1990, Jalali & Singh 1992, Tezze & Botto 2004). A estocagem de inimigos naturais em baixa temperatura pode ser uma alternativa, pois este método possibilita flexibilidade e eficiência na produção massal, garantindo um número suficiente de insetos para liberações em campo, bem como o sincronismo entre emergência dos inimigos naturais e a época de maior ocorrência da praga (Greco & Stilinovic 1998, Pitcher *et al* 2002, Tezze & Botto 2004, Chen *et al* 2008).

Ovos de *Sitotroga cerealella* (Olivier), *Anagasta kuehniella* Zeller e *Corcyra cephalonica* (Staiton) são os hospedeiros alternativos mais utilizados para a obtenção de *Trichogramma*, devido a sua facilidade de criação, grande capacidade reprodutiva e baixo custo de manutenção (Boldt & Marston 1974, Dass & Ram 1983, Bai *et al* 1992, Hassan 1997, Nurindah & Cribb 1997, Parra 1997, Nurindah *et al* 1999, Takada *et al* 2001, Brotdjojo & Walter 2006, Jalali *et al* 2007). No entanto, devido ao reduzido volume dos ovos desses hospedeiros, os parasitóides produzidos são menos longevos, possuem menor capacidade de busca e reduzida fecundidade (Salt 1940 *apud* Boldt & Marston 1974, Marston & Ertle 1973, Waage & Ming 1984). Outras espécies de

hospedeiros alternativos podem produzir parasitóides maiores, mais longevos e com grande capacidade reprodutiva (Boldt & Marston 1974, Bai *et al* 1992). *Pseudaletia sequax* Franclemont é uma espécie de hospedeiro alternativo que possui tais características, e seus ovos têm se mostrado resistentes ao processo de estocagem, apresentando potencial para a criação massal de espécies de *Trichogramma* através das técnicas de armazenagem em baixa temperatura (Avanci 2004).

Na região sul do Brasil, as espécies encontradas com maior frequência em cultivos de milho e soja são *Trichogramma pretiosum* Riley e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Foerster & Avanci 1999, Cañete & Foerster 2003). O ciclo de vida do parasitóide, assim como sua capacidade de parasitismo, dispersão e abundância diferem entre espécies (Cabello & Vargas 1988, Hassan 1997b, Scholler & Hassan 2001, Maceda *et al* 2003), portanto, é provável que estas duas espécies apresentem diferenças entre si quanto à resistência em processos de estocagem. Este trabalho teve como objetivo avaliar a porcentagem de parasitismo, número de parasitóides emergidos por ovo, razão sexual e longevidade de *T. pretiosum* e *T. atopovirilia* em ovos de *P. sequax* estocados em baixa temperatura por diferentes períodos, antes e após terem sido parasitados.

MATERIAL E MÉTODOS

CRIAÇÃO DE *P. SEQUAX* - Os ovos de *P. sequax* foram obtidos no Laboratório de Controle Integrado de Insetos (LCII) da Universidade Federal do Paraná a partir de uma criação mantida desde 2004, iniciada quando adultos da espécie foram coletados em Curitiba (Paraná-Brasil) e região metropolitana. Os insetos foram criados em temperatura constante de $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$, fotofase de 12h e umidade relativa de $70\% \pm 10\%$. Após a eclosão, cerca de 200 lagartas eram colocadas coletivamente em potes plásticos de 150 ml contendo aproximadamente 50ml de dieta artificial (Marchioro 2007). Para permitir a evaporação de água e evitar a infestação por fungos, os recipientes com dieta artificial possuíam uma tampa plástica com uma abertura de 2x2 cm coberta com papel fixado externamente. Ao atingirem o terceiro instar, as lagartas eram individualizadas em potes de plástico de 50 ml contendo cerca de 20ml de dieta artificial e removidas somente após atingirem o estágio de pupa. Os adultos eram mantidos em uma gaiola de madeira (45 x 30 x 22 cm) com faces teladas e alimentados com mel diluído em água a 10% fornecido em placas com algodão. Como substrato para oviposição eram colocadas diariamente

tiras de papel seda dobradas em forma de sanfona. A manutenção da fase larval e da gaiola de adultos era realizada três vezes por semana em dias alternados.

CRIAÇÃO DE *TRICHOGRAMMA* SPP – Os parasitóides *T. pretiosum* e *T. atopovirilia*, foram obtidos no LCII a partir de uma criação permanente iniciada em 1997 a partir da coleta de ovos parasitados de *Anticarsia gemmatalis* Hübner em culturas de soja situadas na região metropolitana de Curitiba, sendo mantida desde 2004 em ovos de *P. sequax*. Os insetos permaneceram em câmara climatizada com temperatura constante de 20°C, fotofase de 12h e umidade relativa de 70% \pm 10%. Durante todo o ciclo de vida, os parasitóides foram mantidos em tubos de ensaio de 1,5x12 cm. A alimentação constituiu-se de mel puro depositado em filetes no interior do tubo com auxílio de um pincel fino. Três vezes por semana, cerca de 500 ovos de *P. sequax* eram ofertados ao parasitismo para cada uma das espécies de *Trichogramma*.

ESTOCAGEM - Os ovos foram estocados em refrigerador com temperatura constante de 4°C \pm 1 antes de serem parasitados e após o parasitismo. Ovos de *P. sequax* de até 24h de idade foram acondicionados em placas de petri forradas com papel filtro e vedadas com filme plástico PVC (3M). Os ovos foram estocados por 20, 40 e 60 dias e após cada período de estocagem, foram retirados do refrigerador e submetidos ao parasitismo em tubos de ensaio de 1x7 cm. Para cada tratamento foram realizadas 15 repetições. Para cada uma das fêmeas copuladas das duas espécies utilizadas, *T. pretiosum* e *T. atopovirilia*, foram ofertadas cartelas contendo 20 ovos cada por 24h em câmara climatizada com temperatura constante de 20 \pm 1°C e fotofase de 12h. Tendo em vista que o estágio de pupa é o que apresenta a maior resistência ao processo de estocagem em baixa temperatura (Peterson 1931, Curl & Burbutis 1977), os parasitóides provenientes dos três períodos de estocagem (20, 40 e 60 dias) foram estocados durante a fase pupal por mais 0, 20 ou 40 dias. O estágio de pupa foi definido pela coloração preta dos ovos (Peterson 1931, Curl e Burbutis 1977) que a 20°C corresponde a oito dias após o parasitismo. Após estes períodos de estocagem na fase pupal, os ovos foram transferidos novamente para a temperatura de 20°C até o término do desenvolvimento dos parasitóides. Foram obtidas nove combinações para cada espécie: 20+0, 20+20, 20+40, 40+0, 40+20, 40+40, 60+0, 60+20, 60+40 dias de estocagem, sendo o primeiro número referente ao período de estocagem de pré-parasitismo, e o segundo número caracterizando o período de estocagem de pós-parasitismo. Para obtenção dos dados de

porcentagem de parasitismo, os ovos no estágio de pupa foram contados com auxílio de microscópio estereoscópico. A partir do número total de parasitóides emergidos dividido pelo número de ovos parasitados, obteve-se o número de parasitóides emergidos por ovo. Diariamente foi fornecido mel puro depositado na parede dos tubos e registrada a mortalidade. Os insetos mortos foram retirados do recipiente e sexados, e assim obtendo-se os dados de longevidade de machos e fêmeas e a razão sexual.

ANÁLISE ESTATÍSTICA – Os dados foram submetidos à ANOVA fatorial sendo considerado como fontes de variação o período de pré-parasitismo, o período de pós-parasitismo e espécie (3x3x2). Os dados analisados pelo teste Shapiro Wilk que não apresentaram distribuição normal foram transformados pelas fórmulas $\log(x+1)$ (parasitóides emergidos por ovo) e $(x+0,5)^{1/2}$ (longevidade de machos e fêmeas). Nos parâmetros de razão sexual e longevidade, os tratamentos que tinham 60 dias como período de pré-parasitismo foram excluídos, pois não houve emergência de parasitóides no tratamento em que os ovos foram estocados por 60+40 dias e parasitados por *T. atopovirilia*. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Independentemente do tempo de estocagem, em todos os tratamentos avaliados foi registrado parasitismo tanto por *T. pretiosum* quanto por *T. atopovirilia*. O tempo de estocagem de pré-parasitismo teve um efeito estatisticamente significativo sobre a porcentagem de parasitismo (Tabela 1). Percentual de parasitismo de 62,9% e 56,8% ocorreram no tratamento com 40 dias de estocagem em *T. pretiosum* e *T. atopovirilia*, respectivamente (Tabela 2). O percentual de parasitismo não foi significativamente afetado pela espécie.

O período de pré-parasitismo, pós-parasitismo, espécie, a interação entre o período de pré-parasitismo e pós-parasitismo e a interação entre o período de pré-parasitismo e espécie, influenciaram significativamente o número de parasitóides emergidos por ovo (Tabela 1). O tratamento em que os ovos foram estocados por 20+20 dias e parasitados por *T. pretiosum* forneceu o maior número de parasitóides por ovo, diferindo estatisticamente dos tratamentos 60+20 e 60+40 (Tabela 3). Em *T.*

atopovirilia, o tratamento que proporcionou o maior número de parasitóides por ovo foi 40+0, diferindo dos tratamentos 20+40, 40+40 e 60+20 (Tabela 3).

Tabela 1: Análise de variância dos fatores de pré-parasitismo, pós-parasitismo e espécie, sobre a porcentagem de parasitismo, o número de parasitóides por ovo e a razão sexual de *Trichogramma pretiosum* e *Trichogramma atopovirilia*.

Parâmetro	Fonte de Variação	GL	F	p
% Parasitismo	Pré-Parasitismo	2	15.69	0.00
	Espécie	1	3.35	0.07
	Pré-Parasitismo / Espécie	2	0.04	0.96
Parasitóides/Ovo	Pré-Parasitismo	1	27.3	0.00
	Pós-Parasitismo	2	46.4	0.00
	Espécie	1	34.74	0.00
	Pré/ Pós-Parasitismo	2	12.33	0.00
	Pré-Parasitismo/ Espécie	1	4.1	0.02
	Pós-Parasitismo/ Espécie	2	2.76	0.07
	Pré/ Pós-Parasitismo/ Espécie	2	0.27	0.8
Razão Sexual	Pré-Parasitismo	1	1.44	0.23
	Pós-Parasitismo	2	0.10	0.90
	Espécie	1	5.40	0.02
	Pré/ Pós-Parasitismo	2	0.01	0.99
	Pré-Parasitismo/ Espécie	1	13.10	0.00
	Pós-Parasitismo/ Espécie	2	2.12	0.12
	Pré/ Pós-Parasitismo/ Espécie	2	1.04	0.36

Significativo (p<0,05)

Tabela 2: Porcentagem média (\pm EP) de parasitismo de *Trichogramma pretiosum* e *Trichogramma atopovirilia*.

Período de Estocagem Pré- parasitismo	% Parasitismo	
	<i>T. pretiosum</i>	<i>T. atopovirilia</i>
20 dias	47.1 \pm 3.87 bc	42.8 \pm 4.41bc
40 dias	62.9 \pm 3.20 a	56.8 \pm 3.44 ab
60 dias	42.9 \pm 3.35 bc	36.7 \pm 3.90 c

Médias acompanhadas pela mesma letra nas colunas não diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 3: Porcentagem média (\pm EP) de número de parasitóides por ovo e razão sexual de *Trichogramma pretiosum* e *Trichogramma atopovirilia*.

Espécie	Tratamento	Parasitóides/ Ovo	Razão Sexual
<i>T. pretiosum</i>	20+0 dias	1.38 \pm 0.14 abc	0.79 \pm 0.04 ab
	40+0 dias	1.64 \pm 0.16 ab	0.63 \pm 0.09 ab
	60+0 dias	1.46 \pm 0.13 abc	0.72 \pm 0.07 ab
	20+20 dias	1.77 \pm 0.18 a	0.88 \pm 0.03 ab
	20+40 dias	1.46 \pm 0.24 abc	0.86 \pm 0.04 ab
	40+20 dias	1.18 \pm 0.12 abcd	0.75 \pm 0.07 ab
	40+40 dias	0.99 \pm 0.14 abcde	0.61 \pm 0.09 b
	60+20 dias	0.72 \pm 0.18 def	0.83 \pm 0.04 ab
	60+40 dias	0.30 \pm 0.08 fg	0.69 \pm 0.10 ab
<i>T. atopovirilia</i>	20+0 dias	0.88 \pm 0.12 cde	0.84 \pm 0.07 ab
	40+0 dias	1.59 \pm 0.23 abc	0.92 \pm 0.02 a
	60+0 dias	1.34 \pm 0.12 abc	0.86 \pm 0.07 ab
	20+20 dias	0.96 \pm 0.14 bcde	0.79 \pm 0.08 ab
	20+40 dias	0.71 \pm 0.29 def	0.76 \pm 0.09 ab
	40+20 dias	1.12 \pm 0.12 abcd	0.82 \pm 0.05 ab
	40+40 dias	0.50 \pm 0.10 defg	0.92 \pm 0.05 ab
60+20 dias	0.42 \pm 0.07 efg	0.91 \pm 0.04 ab	
60+40 dias	0,0 \pm 0,0 g	-	

Médias acompanhadas pela mesma letra nas colunas não diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Não houve diferença significativa na razão sexual considerando-se as interações tempo de estocagem e espécie, exceto entre *T. atopovirilia* parasitando ovos estocados por 40 dias (0,91) e *T. pretiosum* parasitando ovos estocados por 40 dias e posteriormente estocados por mais 40 dias com os parasitóides no estágio de pupa (0,61) (Tabela 3).

A longevidade tanto de fêmeas quanto de machos foi afetada pelo período de pré-parasitismo, pós-parasitismo, pela interação entre estes dois fatores, e pela interação entre o período de pós-parasitismo e espécie (Tabela 4). O tratamento em que os ovos foram estocados por 40+20 dias e parasitados por *T. atopovirilia* apresentou machos e fêmeas mais longevos que os emergidos dos tratamentos 40+0, 20+20, 20+40, 40+40 e 60+20 quando parasitados por esta mesma espécie e nos tratamentos 20+0, 20+20, 20+40, 40+40, 60+20 e 60+40 quando parasitados por *T. pretiosum* (Figuras 1 e 2).

Tabela 4: Análise de variância dos fatores de pré-parasitismo, pós-parasitismo e espécie, sobre a longevidade de machos e fêmeas de *Trichogramma pretiosum* e *Trichogramma atopovirilia*.

Parâmetro	Fonte de Variação	GL	F	p
Longevidade/Machos	Pré-Parasitismo	1	41.68	0.00
	Pós-Parasitismo	2	19.73	0.00
	Espécie	1	0.66	0.42
	Pré/ Pós-Parasitismo	2	11.08	0.00
	Pré-Parasitismo/ Espécie	1	0.96	0.33
	Pós-Parasitismo/ Espécie	2	6.55	0.00
	Pré/ Pós-Parasitismo/ Espécie	2	0.93	0.40
Longevidade/Fêmeas	Pré-Parasitismo	1	45.69	0.00
	Pós-Parasitismo	2	20.81	0.00
	Espécie	1	1.24	0.27
	Pré/ Pós-Parasitismo	2	7.95	0.00
	Pré-Parasitismo/ Espécie	1	0.07	0.79
	Pós-Parasitismo/ Espécie	2	7.70	0.00
	Pré/ Pós-Parasitismo/ Espécie	2	0.45	0.65

Significativo (p<0,05)

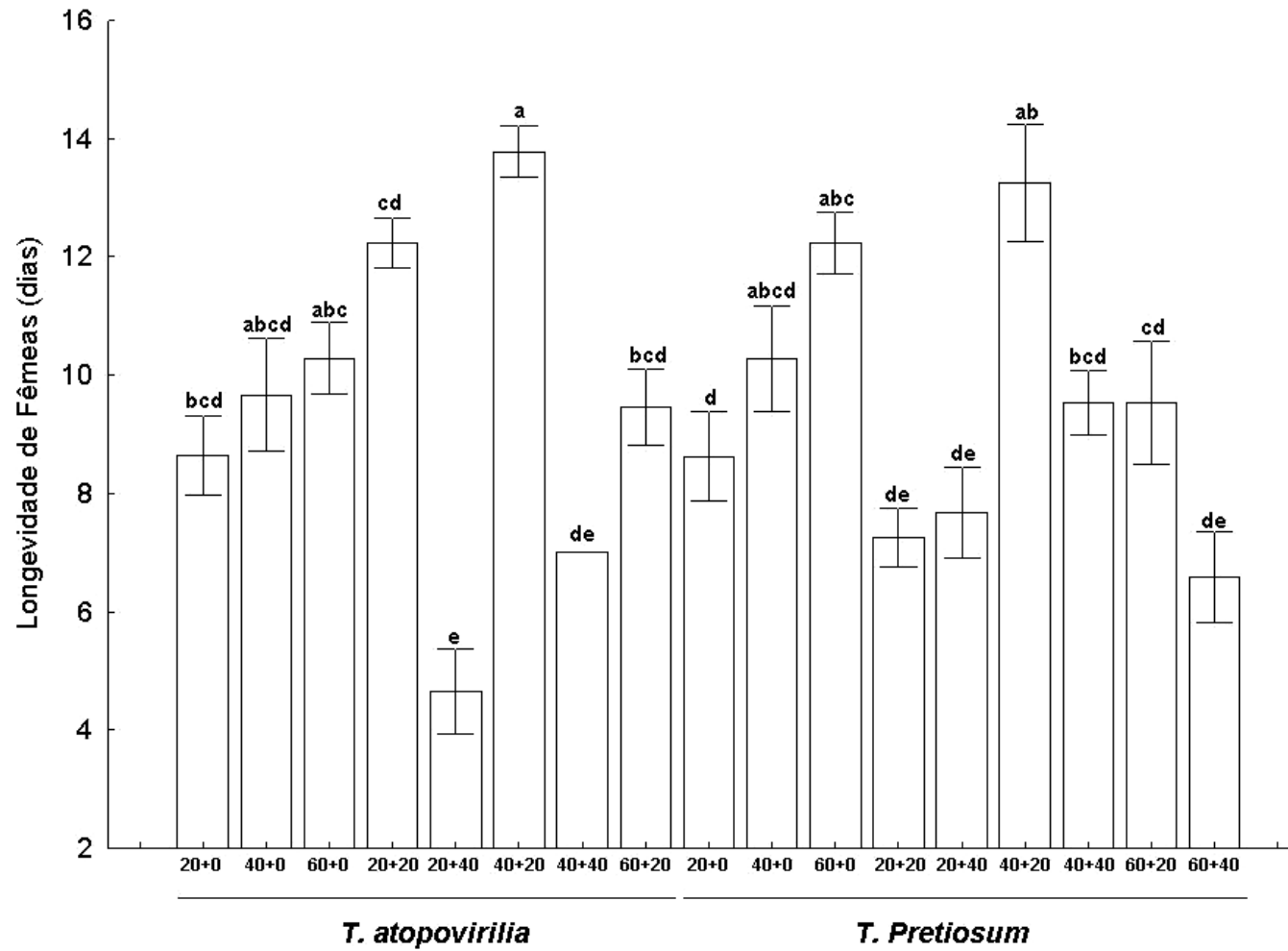


Figura 1: Longevidade de fêmeas de *Trichogramma atovovirilia* e *Trichogramma pretiosum* (Média ± EP). Médias acompanhadas pela mesma letra nas colunas não diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

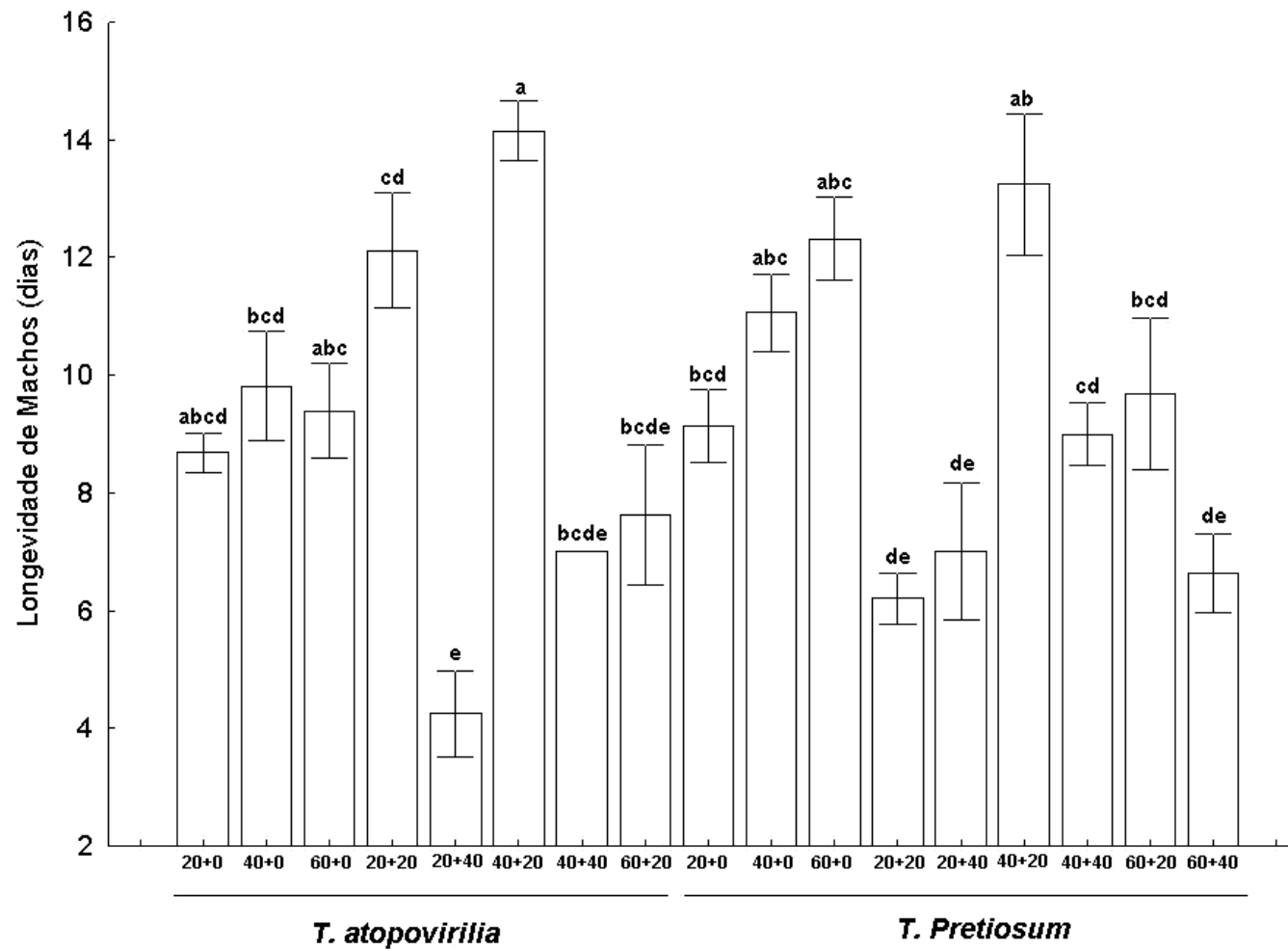


Figura 2: Longevidade de machos de *Trichogramma atovovirilia* e *Trichogramma pretiosum* (Média ± EP). Médias acompanhadas pela mesma letra nas colunas não diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram a possibilidade da utilização do método de estocagem em baixa temperatura para a produção massal de espécies do gênero *Trichogramma*. Trabalhos anteriores também constataram a viabilidade desse método para a produção em grande escala de *Trichogramma*, e há casos em que este método vem sendo utilizado comercialmente, como com *Trichogramma maidis* Pintureau & Voegelé, mantido durante todo o ano estocado a -6°C (Boivin 1994).

Neste estudo o maior tempo de estocagem foi de 113 dias para *T. pretiosum* e 94 dias para *T. atopovirilia*, baseando-se no período máximo de estocagem com emergência de adultos para cada uma das espécies, somado ao tempo médio de desenvolvimento do parasitóide a 21°C , que para a primeira espécie é de 13 dias, e para a segunda 14 dias em ovos de *P. sequax* (Foerster & Foerster 2009). No entanto, pode-se prolongar o tempo de estocagem com temperaturas mais baixas durante o período de desenvolvimento, uma vez que a relação entre temperatura e tempo de desenvolvimento é inversamente proporcional em insetos dentro de uma faixa de tolerância (Chapman 1969). Ventura Garcia *et al* (2002) estocaram *Trichogramma cordubensis* Vargas e Cabello em estado de diapausa por até seis meses a 3°C após um período de 30 a 45 dias de pré-estocagem a 10°C e Voegele *et al* 1986 (*apud* Jalali & Sing 1992) reportaram que *T. maidis* pode ser estocado por cerca de 12 meses a uma temperatura de 3°C .

Outros trabalhos têm utilizado diferentes técnicas de estocagem que podem ser incorporadas ao método empregado no presente trabalho a fim de prolongar o tempo de estocagem dos ovos. Técnicas como a utilização de diferentes temperaturas de estocagem com o armazenamento de ovos a vácuo, e o uso de nitrogênio líquido têm se mostrado promissoras (Greco & Stilinovic 1998, Jalali *et al* 2007). Greco & Stilinovic (1998) estocaram ovos de *S. cerealella* por 20, 30 e 130 dias em nitrogênio líquido sem que houvesse diferenças significativas nas taxas de parasitismo, emergência e razão sexual dos parasitóides. Em outro estudo, Jalali *et al* (2007) obtiveram 75% de parasitismo por *Trichogramma chilonis* Nagajara e Nagarkatti em ovos de *C. cephalonica* estocados a vácuo por 42 dias em temperatura de 8°C . Entretanto, quando utilizado método de estocagem sem o armazenamento dos ovos a vácuo, os autores não registraram parasitismo. Os resultados obtidos pelos autores sugerem que a aplicação das técnicas de estocagem a vácuo e em nitrogênio líquido, bem como seu aprimoramento, podem resultar em períodos ainda maiores de estocagem com ovos de *P. sequax*.

A maioria dos estudos sobre métodos de estocagem têm se concentrado em hospedeiros alternativos comumente utilizados na criação de *Trichogramma* spp., como *S. cerealella*, *A. kuehniella* e *C. cephalonica*. A utilização de outros hospedeiros alternativos pode resultar em períodos mais longos de estocagem e melhores taxas de parasitismo, uma vez que o tamanho do ovo hospedeiro pode influenciar parâmetros como parasitismo, número de parasitóides emergidos por ovo, longevidade e razão sexual (Marston & Ertle 1973, Boldt & Marston 1974, Waage & Ming 1984, Bai *et al* 1992).

Doyon & Boivin (2005) corroborando com os dados de Kazmer & Luck (1995), afirmam que o tamanho das fêmeas influencia em sua longevidade e na capacidade de encontrar e parasitar um ovo hospedeiro, enquanto que em machos o tamanho está relacionado com a capacidade de encontrar fêmeas para cópula e com o número de acasalamentos. Estes mesmos autores, confirmando dados obtidos por Boldt & Marston (1974), demonstraram que as fêmeas de *Trichogramma evanescens* (Westwood) obtidas de ovos de *Ephestia kuehniella* Zeller e provenientes dos maiores ovos deste hospedeiro viveram mais e produziram uma progênie significativamente maior do que aquela proveniente de ovos menores. Os autores atribuíram o melhor desempenho do parasitóide ao seu maior tamanho. Dass & Ram (1983) registraram longevidade média de 3,8 dias para *Trichogramma exiguum* (Pinto & Platner) proveniente de ovos de *C. cephalonica* estocados a -6° C por 15 dias, enquanto Pitcher *et al* (2002) obtiveram 1,28 dias de longevidade para *Trichogramma ostriniae* Pang & Chen estocados a 9°C por 8 semanas em ovos de *S. cerealella*. Em contrapartida, no presente estudo a longevidade média foi de 13,5 dias para *T. pretiosum* e 13,8 dias para *T. atopovirilia* provenientes de ovos estocados pelo mesmo período que os trabalhos citados anteriormente.

As fêmeas de *Trichogramma* ovipositam descendentes machos (ovos haplóides) em hospedeiros menores ou que possuam baixa qualidade nutricional. Por outro lado, os ovos diplóides (fêmeas) são preferencialmente colocados em hospedeiros de alta qualidade (tamanho, idade e qualidade nutricional) a fim de garantir fêmeas com alto potencial reprodutivo (Clausen 1939, Flanders 1956, Suzuki & Iwasa 1980, Waage & Ming 1984, Luck *et al* 1999, Luck *et al* 2001). Com base nestas informações, é esperado que ovos de volume relativamente grande como os de *P. sequax* sejam capazes de fornecer uma prole com maior número de fêmeas que os ovos de pequeno volume como o de microlepidópteros. A razão sexual do presente estudo chegou a 0,92. Por outro lado, Dass & Ram (1983) registraram 56% de emergência de fêmeas de *T. exiguum* em ovos de *C. cephalonica* estocados por 15

dias. Jalali *et al* (2007) obtiveram entre todos os tratamentos realizados a vácuo, uma média de 54% de fêmeas emergidas de ovos de *C. cephalonica*, e 51% nos tratamentos sem vácuo, e verificaram que neste último, a porcentagem de fêmeas emergidas declinou com o aumento no tempo de estocagem.

É provável que ovos estocados em baixa temperatura por períodos prolongados, sofram alterações de coloração e deterioração das propriedades químicas de caimônios e que percam características bioquímicas e nutricionais. Isso diminuiria o tempo de viabilidade desses ovos, e poderia afetar a longevidade, número de parasitóides emergidos por ovo e taxas de parasitismo (Greco & Stilinovic 1998). No presente estudo, períodos mais longos de estocagem, principalmente após o parasitismo, diminuíram a longevidade e forneceram um número menor de parasitóides por ovo, gerando em alguns tratamentos médias inferiores a um, devido à mortalidade de parasitóides durante o período de estocagem. Da mesma forma, quando os ovos foram estocados por um período maior, foi registrado um declínio na taxa de parasitismo. Resultados semelhantes foram relatados em estudos realizados com outras espécies de *Trichogramma* e em diferentes hospedeiros. Greco & Stilinovic (1998) verificaram que o parasitismo por *Trichogramma* em ovos de *S. cerealella* estocados por 25 dias a 8°C se mostrou estatisticamente igual ao de ovos que não foram armazenados, porém com queda significativa na taxa de parasitismo após este período.

A mortalidade total dos parasitóides em desenvolvimento foi constatada no tratamento 60+40 parasitado por *T. atopovirilia*, quando não houve a emergência de adultos. Porém, neste mesmo tratamento, houve emergência de adultos de *T. pretiosum*, portanto, este fato pode ser um indicativo de que esta espécie apresente maior resistência ao processo de estocagem em baixa temperatura. No entanto, a confirmação ou refutação desta proposição somente poderá ser realizada com estudos que incluam maior tempo de estocagem.

Os resultados do presente trabalho demonstraram que a estocagem de ovos de *P. sequax* pode ser viável para a produção massal de *T. pretiosum* e *T. atopovirilia*, uma vez que houve parasitismo e emergência de parasitóides mesmo nos tratamentos com períodos mais longos de estocagem, 60+40 para a primeira espécie e 60+20 para a segunda, com insetos longevos e alto percentual de fêmeas. Os resultados revelaram que *T. pretiosum* é a espécie mais adequada ao método de estocagem utilizado. No entanto, a avaliação do método de estocagem mais eficiente, bem como a espécie mais resistente, deve considerar em estudos futuros a qualidade do parasitóide produzido, como capacidade reprodutiva e teste de vôo dos parasitóides após períodos de estocagem.

REFERÊNCIAS:

- Avanci M R F (2004)** Espécies de *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) que ocorrem em ovos de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) no sudeste do Paraná: parasitismo natural, bioecologia, exigências térmicas e estocagem em baixas temperaturas. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 116p.
- Bai B, Luck R F, Forster L, Stephens B (1992)** The effect of host size on quality attributes of the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum*. Entomol Exp Appl 64, 37-48.
- Boivin G (1994)** Overwintering strategies of egg parasitoids, p. 219-244. In A. Wajnberg & S. A. Hassan (eds.), Biological control with egg parasitoids. CAB International, 286p.
- Boldt P E, Marston N (1974)** Eggs of the greater wax moth as a host for *Trichogramma*. Biol Control Insects Res 3: 545-548.
- Brotodjojo R R R, Walter G H (2006)** Oviposition and reproductive performance of a generalist parasitoid (*Trichogramma pretiosum*) exposed to host species that differ in their physical characteristics. Biol Control 39: 300-312.
- Cabello T, Vargas P (1988)** The effect of temperature on the bionomics of *Trichogramma cordubensis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Les Colloques de l'INRA 4: 155-164.
- Cañete C L, Foerster L A (2003)** Incidência natural e biologia de *Trichogramma atopovirilia* Oatman e Platner, 1983 (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em ovos de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera, Noctuidae). Rev Bras Entomol 47: 201-204.
- Clausen C P (1939)** The effect of host size upon the sex ratio of hymenopterous parasites and its relation to methods of rearing and colonization. J N Y Entomol Soc 47: 1-9.
- Chapman R F (1969)** The insects structure and function. London: The English Universities Press Ltd. 819p.
- Chen W-L, Leopold R A, Boetel M A (2008)** Cold Storage of Adult *Gonatocerus ashmeadi* (Hymenoptera : Mymaridae) and effects on maternal and progeny fitness. J Econ Entomol 101: 1760-1770.
- Curl G D, Burbutis P P (1977)** The mode of overwintering of *Trichogramma nubilale* Ertle and Davis. Environ Entomol 6: 629-632.

- Dass R, Ram A (1983)** Effect of frozen eggs of *Corcyra cephalonica* Staiton (Pyralidae : Lepidoptera) on parasitism by *Trichogramma exiguum* (Pinto and Platneri) (Trichogrammatidae: Hymenoptera). Indian J Entomol 45: 345-347.
- Doyon J, Boivin G (2005)** The effect of development time on the fitness of female *Trichogramma evanescens*. J Insect Sci 5: 1-5.
- Flanders S E (1956)** The mechanisms of sex-ratio regulation in the (parasitic) Hymenoptera. Insects sociaux 3: 325-334.
- Foerster L A, Avanci M R F (1999)** Egg parasitoids of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) in soybeans. An Soc Entomol Bras 28: 545-548.
- Foerster M R, Foerster L A (2009)** Effects of temperature on the immature development and emergence of five species of *Trichogramma*. BioControl 54: 445-450.
- Greco C F, Stilinovic D (1998)** Parasitization performance of *Trichogramma* spp. (Hym., Trichogrammatidae) reared on eggs of *Sitotroga cerealella* Oliver (Lep., Gelechiidae), stored at freezing and subfreezing conditions. J Appl Entomol 122: 311-314.
- Hansen L S, Jensen K M V (2002)** Effect of temperature on parasitism and host-feeding of *Trichogramma turkestanica* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). J Econ Entomol 95: 50-56.
- Hassan S A (1997)** Criação da traça do milho, *Sitotroga cerealella*, para a produção massal de *Trichogramma*. p. 151-172. In Parra J R P & Zucchi R A (eds). *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. Piracicaba, FEALQ, 324p.
- Hassan S A (1997)b** Seleção de espécies de *Trichogramma* para o uso em programas de controle biológico. In: Parra J R P & Zucchi R A 1997. *Trichogramma e o controle biológico aplicado*, FEALQ, Piracicaba 183-206.
- Hohmann C L, Luck R F, Oatman E R (1988)** A comparasion of longevity and fecundity of adult *Trichogramma platneri* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared from eggs of the cabbage looper and the augumouis grain moth, with and without access to honey. J Econ Entomol 81: 1307-1312.
- Jalali S K, Singh S P (1992)** Differential response of four *Trichogramma* species to low temperatures for short term storage. Entomophaga 37: 159-165.
- Jalali S K, Venkatesan T, Murthy K S, Rabindra R J, Lalitha Y (2007)** Vacuum packaging of *Corcyra cephalonica* (Staiton) eggs to enhance shelf life for parasitization by the egg parasitoid *Trichogramma chilonis*. Biol Control 41: 64-67.

- Kazmer D J, Luck R F (1995)** Field tests of size-fitness hypothesis in the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum*. Ecology 76: 412-425.
- Luck R F, Janssen J A M, Pinto J D, Oatman E R (2001)** Precise sex allocation, local mate competition, and sex ratio shifts in the parasitoid wasp *Trichogramma pretiosum*. Behav Ecol Sociobiol 49: 311-321.
- Luck R F, Nunnery L, Stouthamer R (1999)** Sex ratio and quality in the culturing of parasitic hymenoptera: A genetic and evolutionary perspective. In Bellows T S, Fisher T T W, Caltagirone L E. Handbook of biological control: principles and applications of biological control. Academic Press, pp. 653-652.
- Marchioro C A (2007)** Efeito de dietas artificiais sobre o desenvolvimento e reprodução de *Pseudaletia sequax* Franclemont, 1951 (Lepidoptera: Noctuidae) e do parasitóide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná.
- Marston N, Ertle L E (1973)** Host influence on the bionomics of *Trichogramma minutum*. Ann Entomol Soc Am 66: 1155-1162.
- Maceda A, Hohmann C L, Santos H R (2003)** Temperature effects on *Trichogramma pretiosum* Riley and *Trichogrammatoidea annulata* De Santis. Braz Arch Biol Technol 46: 27-32.
- Nurindah G G, Cribb B W (1997)** Oviposition behaviour and reproductive performance of *Trichogramma australicum* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared in artificial diet. Aust J Entomol 36: 87-93.
- Nurindah G G, Cribb B W, Gordh G (1999)** Influence of rearing host size acceptance by *Trichogramma australicum*. BioControl 44: 129-141.
- Parra J R P (1997)** Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*, p. 121-150. In Parra J R P & Zucchi R A (eds.), *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. Piracicaba, FEALQ, 324p.
- Peterson A (1931)** Refrigeration of *Trichogramma minutum* Riley and other notes. J Econ Entomol 24: 1070-1074.
- Pitcher S A, Hoffmann M P, Gardner J, Wright M G, Kuhar T P (2002)** Cold storage of *Trichogramma ostrinae* reared on *Sitotroga cerealella* eggs. BioControl 47: 525-535.
- Rundle B J, Thomson L J, Hoffmann A A (2004)** Effects of cold storage on field and laboratory performance of *Trichogramma carverae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and

the response of three *Trichogramma* spp. (*T. carverae*, *T. nr. brassicae*, and *T. funiculatum*) to cold. J Econ Entomol 97: 213-221.

Scholler M, Hassan S A (2001) Comparative biology and life tables of *Trichogramma evanescens* and *T. cacoeciae* with *Ephestia elutella* as host at four temperatures. Entomol Exp Appl 98: 35-40.

Suzuki Y, Iwasa Y (1980) A sex ratio theory of gregarious parasitoids. Res Popul Ecol 22: 366-382.

Stinner R E, Ridgway R L, Kinzer R E (1974) Storage, manipulation of emergence, and estimation of numbers of *Trichogramma pretiosum*. Environ Entomol 3: 504-507.

Takada Y, Kawamura S, Tanaka T (2001) Host preference of *Trichogramma dendrolimi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on its native host, *Mamestra brassicae* (Lepidoptera: Noctuidae) after 12 continuous generations on a factitious host. Appl Entomol Zool 36: 231-218.

Tezze A A, Botto E N (2004) Effect of cold storage on the quality of *Trichogramma nerudai* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Biol Control 30: 11-16.

Van Lenteren J C, Bueno V H P (2003) Augmentative biological control of arthropods in Latin America. BioControl 48: 123-139.

Van Schelt J, Ravensberg W J (1990) Some aspects on the storage and application of *Trichogramma maidis* in corn. In: International Symposium on *Trichogramma* and Other Egg Parasitoids, 3., San Antonio. Paris: INRA, 1991. p.239-242. (Les Colloques de l'INRA, 56).

Ventura Garcia P, Wajnberg E, Pizzol J, Oliveira M L M (2002) Diapause in the egg parasitoid *Trichogramma cordubensis*: role of temperature. J Insect Physiol 48: 349-355.

Waage J K, Ming N G S (1984) The reproductive strategy of a parasitic wasp. I. Optimal progeny and sex allocation in *Trichogramma evanescens*. J Anim Ecol 53: 401-415.

CAPÍTULO III

BIOLOGIA DE *TRICHOGRAMMA PRETIOSUM* E *TRICHOGRAMMA ATOPOVIRILIA* (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) EM OVOS DE *PSEUDALETIA SEQUAX* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) ESTOCADOS EM NITROGÊNIO LÍQUIDO

RESUMO

Os parasitóides de ovos do gênero *Trichogramma* Westwood são usados mundialmente no controle de lepidópteros-praga. O uso deste parasitóide demanda um número muito grande de insetos a serem liberados em uma cultura e a estocagem em nitrogênio líquido pode representar uma alternativa para a produção massal de *Trichogramma*. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o parasitismo, emergência, parasitóides emergidos por ovo, razão sexual, longevidade e capacidade reprodutiva de *Trichogramma pretiosum* Riley e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner em ovos de *Pseudaletia sequax* Franclemont estocados por diferentes períodos em nitrogênio líquido. Ovos de *P. sequax* foram estocados em nitrogênio líquido por 30, 60 ou 90 dias e em seguida expostos ao parasitismo por *T. pretiosum* e *T. atopovirilia* por um período de 48h. Fêmeas emergidas de cada uma das espécies, nos três períodos de estocagem foram utilizadas para avaliar a capacidade reprodutiva por um período de cinco dias. Os tratamentos com sessenta dias de estocagem e parasitados por *T. pretiosum* e *T. atopovirilia* proporcionaram os percentuais mais altos de parasitismo com 69.8 e 69% de ovos parasitados respectivamente. O percentual mais baixo de emergência (85.3%) foi gerado pelo tratamento com 90 dias de estocagem e parasitismo por *T. atopovirilia*. O tempo de desenvolvimento diminuiu com o aumento no período de estocagem para as duas espécies, porém, as diferenças só se mostraram significativas em todos os tratamentos quando os ovos foram parasitados por *T. pretiosum*. Não houve diferenças significativas entre os tratamentos ou entre as espécies nos valores de longevidade de machos e fêmeas, número de parasitóides obtidos por ovo e razão sexual. A estocagem de ovos de *P. sequax* em nitrogênio líquido se mostrou um método eficiente para a produção massal de espécies de *Trichogramma*.

Palavras-chave: Lepidópteros-praga, parasitóides de ovos, controle biológico, estocagem a frio

ABSTRACT

The egg parasitoids of the genus *Trichogramma* Westwood are employed worldwide as a biological control agent of lepidopteran pests. The use of *Trichogramma* species require a large number of individuals to be released in the crop and liquid nitrogen storage can be an alternative to mass production of these parasitoids. Thus, the objective of the present study was to evaluate the parasitism, emergence, parasitoids emerged per egg, sex ratio, longevity and reproductive capacity of *Trichogramma pretiosum* Riley and *Trichogramma atopovirilia*

Oatman & Platner in *Pseudaletia sequax* Franclemont eggs stored in liquid nitrogen. Eggs of *P. sequax* were stored in liquid nitrogen for 30, 60 or 90 days and then parasitized by *T. pretiosum* and *T. atopovirilia* during 48 hours. Emerged females of each species in the three storage periods were evaluated on their reproductive capacity for a period of five days. Treatments with sixty days of storage and parasitized by *T. pretiosum* and *T. atopovirilia* showed the highest parasitism rate, with 69.8 and 69% of parasitized eggs respectively. The lowest percentage of emergency (85.3%) was recorded when eggs were stored during 90 days and parasitized by *T. atopovirilia*. Development time decreased with the increase in storage period for both species; however, significant differences were recorded only when eggs were parasitized by *T. pretiosum*. There were no significant differences among treatments or between species in longevity of males and females, number of parasitoids per egg and sex ratio. The results showed that the storage of *P. sequax* eggs in liquid nitrogen is an efficient method for mass production of *Trichogramma* species.

Key-Words: Lepidopterous pests, egg parasitoids, biological control, cold storage

INTRODUÇÃO

O uso do controle biológico vem crescendo no mundo todo. Os parasitóides do gênero *Trichogramma* encontram-se entre os agentes mais utilizados no controle de lepidópteros-praga (Hohmann *et al* 1988, Bai *et al* 1992, Jalali & Singh 1992, Takada *et al* 2001, Hansen & Jensen 2002, Van Lenteren & Bueno 2003, Tezze & Botto 2004). Smith (1996) reportou a existência de pesquisas com este gênero em mais de 50 países e liberações deste parasitóide em mais de 32 milhões de hectares em culturas anuais e perenes.

As liberações de *Trichogramma* em campo demandam um número grande de insetos (Stinner *et al* 1974, Jalali & Singh 1992, Rundle *et al* 2004). Estudos vêm sendo realizados com o intuito de produzir *Trichogramma* massalmente (Van Schelt & Ravensberg 1990, Jalali & Singh 1992, Tezze & Botto 2004). As pesquisas têm se concentrado principalmente na utilização de estocagem em baixa temperatura, pois este método apresenta vantagens como sincronismo entre a liberação em campo e pico de ocorrência da praga, e número suficiente de insetos para um controle eficaz (Greco & Stilinovic 1998, Pitcher *et al* 2002, Tezze & Botto 2004, Chen *et al* 2008).

Os principais métodos pesquisados têm sido a estocagem de ovos em refrigerador, freezer e nitrogênio líquido (Greco & Stilinovic 1998). Pesquisas com nitrogênio líquido para estocagem de *Trichogramma* spp. são inexistentes no Brasil, e as informações disponíveis em

pesquisas realizadas em outros países sugerem a viabilidade deste método (Greco & Stilinovic 1998).

Os estudos sobre estocagem em baixa temperatura estão concentrados com hospedeiros alternativos como *Anagasta kuehniella* Zeller, *Corcyra cephalonica* (Staiton) e *Sitotroga cerealella* (Olivier), que apresentam facilidade de criação, alta capacidade reprodutiva e baixo custo de manutenção (Boldt & Marston 1974, Dass & Ram 1983, Bai *et al* 1992, Hassan 1997, Nurindah & Cribb 1997, Parra 1997, Nurindah *et al* 1999, Takada *et al* 2001, Brotodjojo & Walter 2006, Jalali *et al* 2007). Porém, as espécies do gênero *Trichogramma* costumam ser generalistas e capazes de parasitar ovos de inúmeros lepidópteros (Parra *et al* 1987). Alguns hospedeiros produzem ovos maiores, capazes de gerar parasitóides mais longevos e com grande fecundidade e fertilidade (Boldt & Marston 1974, Bai *et al* 1992). Os ovos de *Pseudaletia sequax* Franclemont apresentam tais características e já se mostraram viáveis aos métodos de estocagem em baixa temperatura (Avanci 2004), sendo assim, ovos desta espécie podem representar uma alternativa na produção massal de *Trichogramma* spp.. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar o parasitismo, emergência, razão sexual, longevidade, parasitóides emergidos por ovo e capacidade reprodutiva de *Trichogramma pretiosum* Riley e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner em ovos de *P. sequax* estocados por diferentes períodos em nitrogênio líquido.

MATERIAL E MÉTODOS

CRIAÇÃO DE *P. SEQUAX* – Os ovos de *P. sequax* foram obtidos no Laboratório de Controle Integrado de Insetos (LCII) da Universidade Federal do Paraná a partir de uma criação mantida desde 2004, iniciada quando adultos da espécie foram coletados em Curitiba, Paraná e região metropolitana. A criação em todos os estágios de desenvolvimento foi mantida em temperatura constante de 20°C, fotofase de 12h e umidade relativa de 70% \pm 10%. Após a eclosão, várias lagartas eram colocadas coletivamente em potes plásticos de 150 ml contendo aproximadamente 50 ml de dieta artificial (Marchioro 2007). Para permitir a evaporação de água e evitar a infestação por fungos, os recipientes com dieta artificial possuíam uma tampa plástica com uma abertura de 2x2 cm coberta com papel fixado externamente. Ao atingirem o terceiro instar, as lagartas eram individualizadas em potes de plástico de 50 ml contendo cerca de 20ml de dieta artificial, e removidas somente após atingirem o estágio de pupa. Os adultos eram mantidos em uma gaiola de madeira (45 x 30 x 22 cm) com faces teladas e a alimentação era constituída de mel diluído em água a 10% fornecido em placas com algodão.

Como substrato para oviposição eram colocadas diariamente tiras de papel seda dobradas em forma de sanfona. O cuidado da fase larval e a manutenção da gaiola de adultos eram realizados três vezes por semana em dias alternados.

CRIAÇÃO DE *TRICHOGRAMMA* SPP. – Os parasitóides *T. pretiosum* e *T. atopovirilia*, foram obtidos no LCII a partir de uma criação permanente iniciada em 1997 a partir da coleta de ovos parasitados de *Anticarsia gemmatalis* Hübner em culturas de soja situadas na região metropolitana de Curitiba, sendo mantida desde 2004 em ovos de *P. sequax*. Os insetos foram mantidos em câmara climatizada com temperatura constante de 20°C, fotofase de 12h e umidade relativa de 70% ± 10%. Durante todo o ciclo de vida, os parasitóides foram mantidos em tubos de ensaio de 1,5x12 cm. A alimentação constituiu-se de mel puro depositado em filetes no interior do tubo com auxílio de um pincel fino. Três vezes por semana, cerca de 500 ovos de *P. sequax* eram ofertados ao parasitismo para cada uma das espécies de *Trichogramma*.

ESTOCAGEM EM NITROGÊNIO LÍQUIDO - Ovos de *P. sequax* de até 24h de idade foram envolvidos em papel alumínio (3x3 cm) e colocados dentro de tubos do tipo Ependorf (5 ml), cerca de 500 ovos para cada tubo. Em seguida os ovos foram acondicionados em cilindros metálicos no interior do botijão contendo nitrogênio líquido. Os ovos foram estocados por períodos de 30, 60 e 90 dias. Ao serem retirados do cilindro de nitrogênio, os ovos foram colocados em pequenos sacos plásticos (7x10 cm) e submetidos a banho de imersão em água a 50°C por 30 minutos para descongelamento (Greco & Stilinovic 1998). Em seguida, 20 ovos foram ofertados a uma fêmea copulada de *T. pretiosum* e *T. atopovirilia* em tubos de ensaio de 1x7 cm por 48h em câmara climatizada com temperatura constante de 20±1° C e UR de 70±10%. Foram realizadas 20 repetições para cada tratamento, e as fêmeas foram alimentadas com filetes de mel silvestre puro fornecido com auxílio de pincel fino. Como testemunha foram utilizadas 20 réplicas para cada espécie de *Trichogramma* com ovos não estocados. Os parâmetros avaliados foram porcentagem de parasitismo, porcentagem de emergência, tempo de desenvolvimento, longevidade e razão sexual. Após a emergência dos parasitóides, foram escolhidas aleatoriamente 10 fêmeas entre as repetições para teste de capacidade reprodutiva. Durante cinco dias, as fêmeas selecionadas receberam diariamente 20 ovos para parasitismo.

ANÁLISE ESTATÍSTICA - Os dados foram submetidos à ANOVA fatorial, tendo como fonte de variação o tempo de estocagem e a espécie (3x2). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). O teste “t” foi utilizado com a finalidade de comparar cada um dos parâmetros utilizados (porcentagem de parasitismo, porcentagem de emergência, tempo de desenvolvimento, longevidade de machos e fêmeas, parasitóides emergidos por ovo e razão sexual) entre as espécies para cada tratamento. Este teste foi empregado ainda para a análise da capacidade reprodutiva, quando comparado cada tratamento entre as espécies e para a comparação entre os tratamentos de uma mesma espécie foi utilizado análise de variância com médias de parasitismo comparadas por Tukey ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Em todos os tratamentos houve parasitismo e emergência de adultos de ambas as espécies estudadas. A análise de variância demonstrou que o percentual de parasitismo foi afetado pelo tempo de estocagem, mas não pela espécie (Tabela 1). Em *T. pretiosum* não houve diferença significativa no percentual de parasitismo entre os tratamentos (Tabela 2 e 3). Porém, em *T. atopovirilia*, no tratamento com ovos estocados por 30 dias, a porcentagem de parasitismo foi significativamente menor que na testemunha e no tratamento com 60 dias de armazenamento (Tabela 2 e 3). Quando cada um dos períodos de estocagem foi comparado entre as duas espécies, não houve diferença significativa (Tabela 2).

A espécie e o tempo de estocagem influenciaram de forma significativa a emergência de parasitóides (Tabela 1). A comparação realizada entre os tratamentos de uma mesma espécie demonstrou que os ovos estocados por 90 dias e parasitados por *T. atopovirilia* alcançaram um percentual de emergência estatisticamente inferior ao tratamento com 30 dias de estocagem (Tabela 2 e 3). Em *T. pretiosum*, a porcentagem de emergência no tratamento com 60 dias de estocagem foi significativamente menor que na testemunha e no tratamento com 30 dias de estocagem. Não houve diferença significativa na porcentagem de emergência dos parasitóides entre os tratamentos tanto em *T. pretiosum* quanto em *T. atopovirilia* (Tabelas 2 e 3). Quando os tratamentos foram comparados entre as espécies, a porcentagem de emergência dos parasitóides no tratamento com noventa dias de estocagem e parasitismo por *T. atopovirilia*, foi significativamente inferior a *T. pretiosum* (Tabela 2).

Tabela 1: Análise de variância dos fatores espécie e tempo de estocagem a -196°C, sobre a porcentagem de parasitismo, porcentagem de emergência, tempo de desenvolvimento, longevidade de machos e fêmeas, número de parasitóides por ovo e a razão sexual de *Trichogramma pretiosum* e *Trichogramma atopovirilia*.

Parâmetro	Fonte de Variação	GL	F	P
% Parasitismo	Espécie	1	0.76	0.38
	Tempo de Estocagem	3	3.83	0.01
	Espécie/Tempo de Estocagem	3	0.71	0.55
% Emergência	Espécie	1	8.76	0.00
	Tempo de Estocagem	3	3.20	0.03
	Espécie/Tempo de Estocagem	3	2,57	0.06
Tempo de Desenvolvimento	Espécie	1	161.1	0.00
	Tempo de Estocagem	3	681.1	0.00
	Espécie/Tempo de Estocagem	3	20.4	0.00
Longevidade Machos	Espécie	1	0.91	0.34
	Tempo de Estocagem	3	23.2	0.00
	Espécie/Tempo de Estocagem	3	1.69	0.17
Longevidade Fêmeas	Espécie	1	0.25	0.62
	Tempo de Estocagem	3	19.24	0.00
	Espécie/Tempo de Estocagem	3	1.52	0.21
Parasitóides por ovo	Espécie	1	0.13	0.72
	Tempo de Estocagem	3	14.45	0.00
	Espécie/Tempo de Estocagem	3	1.31	0.27
Razão Sexual	Espécie	1	1.64	0.20
	Tempo de Estocagem	3	0.67	0.52
	Espécie/Tempo de Estocagem	3	0.63	0.59

Significativo (p<0,05)

Tabela 2: Médias (+EP) de porcentagem de parasitismo, porcentagem de emergência, tempo de desenvolvimento, longevidade de machos e fêmeas, parasitóides emergidos por ovo e razão sexual de *Trichogramma atopovirilia* e *Trichogramma pretiosum* provenientes de ovos estocados a -196°C por 30, 60 e 90 dias.

Espécie	Parâmetros	Tempo de Estocagem (dias)			
		Testemunha	30	60	90
<i>T. pretiosum</i>	%Parasitismo	66.0 ± 7.59 aA	60.6 ± 4.9 aA	69.8 ± 4.7 aA	58.5 ± 6.8 aA
	% Emergência	100 ± 0.00 aA	100.0 ± 0.0 aA	97.5 ± 1.1 aB	99.5 ± 0.6 aAB
	Desenvolvimento	13.0 ± 0.00 aD	17.0 ± 0.0 aA	16.0 ± 0.0 bB	15.2 ± 0.4 bC
	Longevidade ♂	5.9 ± 1.1 aB	16.3 ± 1,3 aA	12.7 ± 0.9 aA	11.7 ± 2.2 aA
	Longevidade ♀	29.2 ± 3.0 aA	15.7 ± 1.3 aB	12.7 ± 1.2 aB	14.1 ± 2.3 aB
	Parasitóides/ovo	2.3 ± 0.2 aA	1.3 ± 0.1 aB	1.6 ± 0.1 aB	1.6 ± 0.1 aAB
	Razão Sexual	0.8 ± 0.0 aA	0.8 ± 0.1 aA	0.8 ± 0.1 aA	0.8 ± 0.1 aA
<i>T. atopovirilia</i>	%Parasitismo	70.3 ± 7.39 aA	48.9 ± 4.9 aB	69.0 ± 3.5 aA	52.1 ± 7.7 aAB
	% Emergência	96.5 ± 3.12 aAB	100.0 ± 0.0 aA	93.5 ± 3.3 aAB	85.3 ± 5.9 bB
	Desenvolvimento	14.0 ± 0.0 aC	17.0 ± 0.0 aA	16.8 ± 0.1 aAB	16.4 ± 0.2 aB
	Longevidade ♂	6.1 ± 0.7 aB	14.6 ± 0.9 aA	13.8 ± 0.6 aA	15.2 ± 2.0 aA
	Longevidade ♀	25.9 ± 3.1 aA	14.7 ± 1.1 aB	16.4 ± 1.0 aB	17.3 ± 1.9 aB
	Parasitóides/ovo	2.3 ± 0.3 aA	1.5 ± 0.1 aB	1.5 ± 0.1 aB	1.6 ± 0.1 aB
	Razão Sexual	0.8 ± 0.0 aA	0.8 ± 0.0 aA	0.9 ± 0.0 aA	0.8 ± 0.1 aA

As médias acompanhadas pela mesma letra minúscula nas colunas (teste t) e maiúsculas nas linhas (Tukey) não diferiram estatisticamente (p<0,05).

O tempo de desenvolvimento dos parasitóides foi significativamente afetado pela espécie, pelo tempo de estocagem e pela interação entre estes fatores (Tabela 1). Em *T. pretiosum*, nos tratamentos em que houve estocagem dos ovos, o tempo de desenvolvimento diminuiu significativamente conforme o aumento no tempo de armazenamento dos ovos, de forma que o período necessário para emergência dos adultos variou de 17 dias no tratamento com 30 dias de estocagem a 15,3 dias no tratamento com 90 dias de estocagem (Tabela 2 e 3). O mesmo ocorreu com *T. atopovirilia* nos tratamentos em que houve estocagem dos ovos, porém, a diferença significativa se mostrou apenas nos tratamentos com 30 e 90 dias de estocagem, sendo o período de desenvolvimento de 17 e 16,4 dias respectivamente (Tabela 2 e 3). Nas duas espécies estudadas, a testemunha apresentou tempo de desenvolvimento significativamente inferior aos tratamentos em que houve estocagem de ovos (Tabela 2). Quando cada tratamento foi comparado entre as duas espécies, os experimentos com 60 e 90 dias de estocagem e ovos parasitados por *T. pretiosum* apresentaram tempo de desenvolvimento significativamente inferior ao apresentado por *T. atopovirilia* (Tabela 2).

A longevidade tanto de machos quanto de fêmeas foi afetada significativamente pelo tempo de estocagem dos ovos (Tabela 1). Tanto em *T. pretiosum* quanto em *T. atopovirilia* a longevidade dos machos da testemunha foi significativamente inferior aos tratamentos com 30, 60 e 90 dias de estocagem. Porém, o inverso ocorreu com as fêmeas, pois comparada aos demais tratamentos, a longevidade foi estatisticamente maior na testemunha (Tabela 2 e 3).

O número de parasitóides emergidos por ovo foi significativamente afetado pelo período de estocagem, de forma que na testemunha o número de insetos obtidos por ovo foi estatisticamente maior do que nos tratamentos com 30, 60 e 90 dias de estocagem em ambas as espécies (Tabelas 1, 2 e 3). Porém, não houve diferença significativa quando os tratamentos foram comparados um a um entre as duas espécies (Tabela 2).

Na capacidade reprodutiva, a média total de ovos parasitados diferiu entre os tratamentos nos ovos parasitados por *T. pretiosum*, sendo o tratamento com 60 dias de estocagem aquele que proporcionou fêmeas com menor capacidade reprodutiva (Tabela 4). Em *T. atopovirilia* não houve diferença significativa no parasitismo apresentado pelas fêmeas provenientes dos diferentes tratamentos (Tabela 4). Quando comparadas as duas espécies, verificou-se que *T. pretiosum* provenientes dos ovos estocados por 30 dias, parasitaram mais ovos que *T. atopovirilia* ($t=-2.08$; $gl= 97$; $p= 0.04$). Porém, o inverso ocorreu nos experimentos em que fêmeas oriundas de ovos que foram estocados por 60 dias ($t= 2.07$; $gl= 98$; $p= 0.04$). Não houve diferença significativa no tratamento em que ovos foram

armazenados por 90 dias ($t= 0.56$; $gl= 94$; $p= 0.57$). As médias de parasitismo ao longo dos dias encontram-se na Tabela 5.

Tabela 3: Análise da variância do tempo de estocagem sobre os parâmetros porcentagem de parasitismo, porcentagem de emergência, tempo de desenvolvimento, longevidade de machos e fêmeas, parasitóides emergidos por ovo e razão sexual de *Trichogramma atopovirilia* e *Trichogramma pretiosum* provenientes de ovos estocados a -196°C por 30, 60 e 90 dias.

Parâmetros	<i>T. pretiosum</i>			<i>T. atopovirilia</i>		
	GL	F	p	GL	F	p
%Parasitismo	3	0.75	0.53	3	3.84	0.01
% Emergência	3	3.22	0.03	3	3.04	0.04
Desenvolvimento	3	665.5	0.00	3	170.22	0.00
Longevidade ♂	3	10.06	0.00	3	15.73	0.00
Longevidade ♀	3	12.30	0.00	3	7.62	0.00
Parasitóides/ovo	3	7.66	0.00	3	7.42	0.00
Razão Sexual	3	0.59	0.62	3	0.99	0.40

Significativo ($p<0,05$)

Tabela 4: Porcentagem de parasitismo (\pm EP) de fêmeas de *Trichogramma pretiosum* e *Trichogramma atopovirilia* provenientes de ovos estocados a -196°C por 30, 60 e 90 dias. (N= 20 ovos/dia)

Tempo de Estocagem (dias)	Porcentagem de ovos parasitados ao longo de cinco de dias	
	<i>T. pretiosum</i>	<i>T. atopovirilia</i>
30	58.8 ± 3.4 aA	47.6 ± 3.6 aB
60	51.9 ± 4.6 bB	55.1 ± 3.8 aA
90	54.0 ± 4.0 abA	54.2 ± 3.6 aA

Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas (Tukey) e maiúsculas nas linhas (teste t) não diferiram significativamente entre si ($p<0,05$).

Tabela 5: Média (\pm EP) de ovos parasitados ao longo de cinco dias por fêmeas de *Trichogramma pretiosum* e *Trichogramma atopovirilia* provenientes de ovos estocados a -196°C por 30, 60 e 90 dias (N=20 ovos/dia).

Espécie	Tempo	Média de ovos parasitados ao longo do tempo (dias)				
		Primeiro	Segundo	Terceiro	Quarto	Quinto
<i>T. pretiosum</i>	30	14.8 \pm 1.8	8.1 \pm 1.1	12.8 \pm 0.9	11.3 \pm 1.5	11.8 \pm 1.5
	60	12.0 \pm 2.6	5.9 \pm 2.3	7.0 \pm 1.7	10.1 \pm 1.9	6.5 \pm 1.3
	90	14.7 \pm 1.9	4.8 \pm 1.7	8.2 \pm 1.7	9.5 \pm 1.8	11.4 \pm 1.1
<i>T. atopovirilia</i>	30	15.6 \pm 1.9	7.5 \pm 1.0	7.6 \pm 0.9	8.4 \pm 1.1	9.3 \pm 2.9
	60	15.7 \pm 1.8	13.8 \pm 1.2	8.0 \pm 1.6	9.4 \pm 3.9	7.1 \pm 1.1
	90	15.6 \pm 1.4	8.0 \pm 1.5	8.8 \pm 1.6	10.2 \pm 1.4	8.7 \pm 1.4

DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo revelaram a estocagem de ovos em nitrogênio líquido como um método promissor para a produção massal de *Trichogramma* spp.. Somando-se o tempo máximo de estocagem de 90 dias, ao período de desenvolvimento médio das espécies utilizadas, que foi de 16 dias, o período total de estocagem alcançado foi de 106 dias.

Em *T. pretiosum*, não houve diferença entre o parasitismo apresentado pela testemunha e o obtido nos demais tratamentos. Estes dados corroboraram àqueles apresentados por Greco & Stilinovic (1998) que estocaram ovos de *S. cerealella* por trinta e cinco dias em nitrogênio líquido sem que houvesse diferença significativa nos valores de parasitismo de *T. pretiosum*. *T. atopovirilia* apresentou diferenças estatísticas nos percentuais de parasitismo, sendo que no tratamento com 30 dias de estocagem, o parasitismo foi de 47,6%. Este fato poderia ser atribuído ao tempo de permanência no nitrogênio líquido se esta diferença se mostrasse negativa apenas no tratamento com noventa dias de estocagem. Por este motivo, *T. pretiosum* apresentou maior aceitabilidade a ovos estocados em nitrogênio líquido do que *T. atopovirilia*.

Outros métodos de estocagem, como refrigerador e freezer causam danos nas células dos ovos hospedeiros (Greco & Stilinovic 1998), e por esse motivo os ovos tornam-se inviáveis com o aumento no período de estocagem. Entretanto, isso não ocorre quando os

ovos são expostos ao nitrogênio líquido, pois o congelamento é instantâneo (Greco & Stilinovic 1998), e uma vez congelado, as características do ovo permanecem imutáveis por períodos maiores de tempo. No entanto, no presente estudo, foi observado que os ovos possuíam pouco tempo de viabilidade, e cerca de 48h após a retirada do nitrogênio, os mesmos se deterioravam completamente. Por este motivo, a utilização de mais de uma fêmea por recipiente de oviposição, ou a redução no número de ovos ofertados por inseto poderá maximizar o parasitismo.

Embora a porcentagem de emergência tenha sido estatisticamente menor nos tratamentos com 60 e 90 dias em *T. pretiosum* e *T. atopovirilia*, respectivamente, o percentual de emergência se manteve acima de 85%, um valor alto se comparado aos resultados obtidos por Greco e Stilinovic (1998), pois a maior porcentagem de emergência obtida por estes autores foi de 68.8% em ovos de *S. cerealella* estocados por 130 dias em nitrogênio líquido. Esta diferença pode ser explicada pelos hospedeiros utilizados, pois ovos de *P. sequax* são maiores que os ovos de *S. cerealella*, e dados da literatura sugerem que ovos hospedeiros maiores podem influenciar positivamente parâmetros como parasitismo, número de parasitóides emergidos por ovo, longevidade e razão sexual (Marston & Ertle 1973, Boldt & Marston 1974, Waage & Ming 1984, Bai *et al* 1992).

Özder (2004) estocou ovos de *Ephestia kuehniella* (Zell.) por até trinta e um dias nas temperaturas de 0°, 4° e 8° C. O autor verificou que os percentuais de parasitismo e emergência por *Trichogramma cacoeciae* Marchal diminuíram significativamente com o aumento no período de estocagem. Resultado semelhante foi apresentado por Jalali *et al* (2007) quando estocaram ovos de *C. cephalonica* a 8°C por até setenta dias, utilizando dois métodos de estocagem, com e sem vácuo. Esses autores verificaram que o parasitismo e emergência de *Trichogramma chilonis* Ishii decresciam com o aumento no tempo de estocagem nos dois métodos utilizados. Dass & Ram (1983), estocaram ovos de *C. cephalonica* a -6°C por até 15 dias e verificaram que apesar do curto período de estocagem, a porcentagem de emergência de *Trichogramma exiguum* (Pinto & Platneri) diminuiu com o acréscimo no tempo de estocagem. Resultados como estes, demonstram a vantagem de utilizar o método de estocagem em nitrogênio líquido, uma vez que no presente trabalho, os percentuais de parasitismo de *T. pretiosum* foram constantes mesmo nos tratamentos com os maiores períodos de estocagem.

Segundo Greco & Stilinovic (1998), a composição química dos ovos, como estrutura de proteínas, lipídios e caimônios, sofrem alterações em consequência da exposição a

condições de estocagem. Desta forma, a diminuição no tempo de desenvolvimento de acordo com o aumento no período de estocagem, como observado no presente estudo, pode ser em decorrência de alterações bioquímicas sofridas pelo ovo hospedeiro.

Em *Trichogramma* spp. as fêmeas destinam seus ovos haplóides (machos) a hospedeiros menores ou de baixa qualidade nutricional, e seus ovos diplóides (fêmeas) são colocados em ovos de alta qualidade, a fim de garantir fêmeas com alta capacidade reprodutiva. Jalali *et al* (2007) verificaram entre todos os tratamentos realizados a vácuo, uma média de 54% de fêmeas emergidas de ovos de *C. cephalonica*, e 51% nos tratamentos sem vácuo, e notaram ainda que a porcentagem de fêmeas emergidas declinou com o aumento no tempo de estocagem. Dass & Ram (1983) obtiveram 56% de fêmeas de *T. exiguum* com ovos de *C. cephalonica* estocados por 15 dias. No presente trabalho, a razão sexual se manteve alta mesmo com períodos mais longos de estocagem e não diferiu entre as espécies e tratamentos. No estudo de Greco & Stilinovic (1998), a razão sexual, como no presente estudo, se mostrou alta, com cerca de 2.4 fêmeas para cada macho, e não diferiu entre os tratamentos com ovos estocados no nitrogênio. Os autores atribuíram este resultado ao fato de machos serem mais sensíveis as mudanças sofridas pelo hospedeiro durante a estocagem, o que causaria a morte dos mesmos no estágio de pupa e aumentaria o número de fêmeas emergidas. Porém, neste mesmo trabalho, a razão sexual de parasitóides provenientes de ovos estocados a 8°C foi de aproximadamente 1.6 fêmeas para cada macho. Sendo assim, é possível inferir que devido ao congelamento instantâneo, os ovos estocados em nitrogênio ainda mantenham sua qualidade nutricional, de forma que as fêmeas de *Trichogramma* destinem ovos diplóides a estes hospedeiros, causando um aumento no valor da razão sexual.

Dass & Ram (1983) notaram que a capacidade reprodutiva das fêmeas de *T. exiguum* diminuiu com o avanço no período de estocagem. Corroborando os dados destes autores, Özder (2004) também verificou uma diminuição na fecundidade de *T. cacoeciae* conforme o aumento no tempo de estocagem. Diferente dos dados obtidos por estes autores, no presente estudo não houve decréscimo da fecundidade relacionado ao aumento do período de estocagem. As diferenças encontradas entre as espécies e entre os períodos de estocagem, possivelmente ocorreram ao acaso, em decorrência de características individuais das fêmeas utilizadas. Seriam necessários estudos que contemplassem períodos mais longos de estocagem na tentativa de constatar se haveria influência do tempo de permanência dos ovos no nitrogênio sobre a reprodução dos parasitóides.

Os resultados do presente estudo revelaram o método de estocagem de ovos em *P. sequax* como uma possibilidade para a produção massal de *Trichogramma*. Este método se mostrou mais promissor que os métodos de estocagem comumente utilizados, pois nos tratamentos em que houve estocagem de ovos, a grande maioria dos parâmetros não foi influenciada com o aumento no período de armazenagem. *T. pretiosum* se revelou a espécie mais adaptável ao uso da técnica de estocagem de ovos em nitrogênio líquido, uma vez que os parâmetros avaliados desta espécie sofreram menos alterações que *T. atopovirilia*. Porém, estudos com períodos de estocagem mais longos e testes de qualidade mais detalhados, como capacidade de vôo, são ainda necessários para apontar a espécie, bem como o método de estocagem mais eficiente.

REFERÊNCIAS

- Avanci M R F (2004)** Espécies de *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) que ocorrem em ovos de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) no sudeste do Paraná: parasitismo natural, bioecologia, exigências térmicas e estocagem em baixas temperaturas. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 116p.
- Bai B, Luck R F, Forster L, Stephens B (1992)** The effect of host size on quality attributes of the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum*. Entomol Exp Appl 64, 37-48.
- Boldt P E, Marston N (1974)** Eggs of the greater wax moth as a host for *Trichogramma*. Biol Control Insects Res 3: 545-548.
- Brotodjojo R R R, Walter G H (2006)** Oviposition and reproductive performance of a generalist parasitoid (*Trichogramma pretiosum*) exposed to host species that differ in their physical characteristics. Biol Control 39: 300-312.
- Dass R, Ram A (1983)** Effect of frozen eggs of *Corcyra cephalonica* Staiton (Pyralidae : Lepidoptera) on parasitism by *Trichogramma exiguum* (Pinto and Platneri) (Trichogrammatidae: Hymenoptera). Indian J Entomol 45: 345-347.
- Chen W-L, Leopold R A, Boetel M A (2008)** Cold Storage of Adult *Gonatocerus ashmeadi* (Hymenoptera : Mymaridae) and effects on maternal and progeny fitness. J Econ Entomol 101: 1760-1770.
- Greco C F, Stilinovic D (1998)** Parasitization performance of *Trichogramma* spp. (Hym., Trichogrammatidae) reared on eggs of *Sitotroga cerealella* Oliver (Lep., Gelechiidae), stored at freezing and subfreezing conditions. J Appl Entomol 122: 311-314.
- Hansen L S, Jensen K M V (2002)** Effect of temperature on parasitism and host-feeding of *Trichogramma turkestanica* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). J Econ Entomol 95: 50-56.
- Hassan S A (1997)** Seleção de espécies de *Trichogramma* para o uso em programas de controle biológico. In: Parra J R P & Zucchi R A (1997) *Trichogramma* e o controle biológico aplicado, FEALQ, Piracicaba 183-206.
- Hohmann C L, Luck R F, Oatman E R (1988)** A comparasion of longevity and fecundity of adult *Trichogramma platneri* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared from eggs of the cabbage looper and the augumouis grain moth, with and without access to honey. J Econ Entomol 81: 1307-1312.

- Jalali S K, Singh S P (1992)** Differential response of four *Trichogramma* species to low temperatures for short term storage. *Entomophaga* 37: 159-165.
- Jalali S K, Venkatesan T, Murthy K S, Rabindra R J, Lalitha Y (2007)** Vacuum packaging of *Corcyra cephalonica* (Staiton) eggs to enhance shelf life for parasitization by the egg parasitoid *Trichogramma chilonis*. *Biol Control* 41: 64-67.
- Marchioro C A (2007)** Efeito de dietas artificiais sobre o desenvolvimento e reprodução de *Pseudaletia sequax* Franclemont, 1951 (Lepidoptera: Noctuidae) e do parasitóide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná.
- Marston N, Ertle L E (1973)** Host influence on the bionomics of *Trichogramma minutum*. *Ann Entomol Soc Am* 66: 1155-1162.
- Nurindah G G, Cribb B W (1997)** Oviposition behaviour and reproductive performance of *Trichogramma australicum* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared in artificial diet. *Aust J Entomol* 36: 87-93.
- Nurindah G G, Cribb B W, Gordh G (1999)** Influence of rearing host size acceptance by *Trichogramma australicum*. *BioControl* 44: 129-141.
- Özder N (2004)** Effect of different cold storage periods on parasitization performance of *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on eggs of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera, Pyralidae). *Biocontrol Sci Technol* 14: 441-447.
- Parra J R P (1997)** Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*, p. 121-150. In Parra J R P & Zucchi R A (eds.), *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. Piracicaba, FEALQ, 324p.
- Parra J R P, Zucchi R A, Silveira Neto S (1987)** Biological control of pests through egg parasitoids of the genera *Trichogramma* and/or *Trichogrammatoidea*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 82: 153-160.
- Pitcher S A, Hoffmann M P, Gardner J, Wright M G, Kuhar T P (2002)** Cold storage of *Trichogramma ostrinae* reared on *Sitotroga cerealella* eggs. *BioControl* 47: 525-535.
- Rundle B J, Thomson L J, Hoffmann A A (2004)** Effects of cold storage on field and laboratory performance of *Trichogramma carverae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and the response of three *Trichogramma* spp. (*T. carverae*, *T. nr. brassicae*, and *T. funiculatum*) to cold. *J Econ Entomol* 97: 213-221.
- Smith S M (1996)** Biological control with *Trichogramma*: advances, successes, and potential of their use. *Ann Rev Entomol* 41: 375-406.

- Stinner R E, Ridgway R L, Kinzer R E (1974)** Storage, manipulation of emergence, and estimation of numbers of *Trichogramma pretiosum*. Environ Entomol 3: 504-507.
- Takada Y, Kawamura S, Tanaka T (2001)** Host preference of *Trichogramma dendrolimi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on its native host, *Mamestra brassicae* (Lepidoptera: Noctuidae) after 12 continuous generations on a factitious host. Appl Entomol Zool 36: 231-218.
- Tezze A A, Botto E N (2004)** Effect of cold storage on the quality of *Trichogramma nerudai* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Biol Control 30: 11-16.
- Van Lenteren J C, Bueno V H P (2003)** Augmentative biological control of arthropods in Latin America. BioControl 48: 123-139.
- Van Schelt J, Ravensberg W J (1990)** Some aspects on the storage and application of *Trichogramma maidis* in corn. In: International Symposium on *Trichogramma* and Other Egg Parasitoids, 3., San Antonio. Paris: INRA, 1991. p.239-242. (Les Colloques de l'INRA, 56).
- Waage J K, Ming N G S (1984)** The reproductive strategy of a parasitic wasp. I. Optimal progeny and sex allocation in *Trichogramma evanescens*. J Anim Ecol 53: 401-415.