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

Otimização da criação de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879), hospedeiro alternativo de *Trichogramma* spp., baseando-se na temperatura, densidade larval e concentração de dióxido de carbono

Aloisio Coelho Junior

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Entomologia

**Piracicaba
2010**

Aloisio Coelho Junior
Bacharel em Ciências Biológicas

Otimização da criação de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879), hospedeiro alternativo de *Trichogramma* spp., baseando-se na temperatura, densidade larval e concentração de dióxido de carbono

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

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Entomologia

Piracicaba
2010

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Coelho Junior, Aloisio

Otimização da criação de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879), hospedeiro alternativo de *Trichogramma* spp., baseando-se na temperatura, densidade larval e concentração de dióxido de carbono / Aloisio Coelho Junior. - - Piracicaba, 2010.
81 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2010.
Bibliografia.

1. Controle biológico 2. Dióxido de carbono 3. Insetos (Criação) 4. Insetos parasitoides - Produção 5. Temperatura 6. Traças I. Título

CDD 632.78
C672o

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

A Deus, pelo dom da vida e por sempre iluminar meu caminho.

Agradeço

Aos meus pais, Aloisio Coelho e Martina Vaz Coelho, por todo o carinho e por sempre terem lutado pela minha maior herança: a educação.

À minha irmã Maria José por todo carinho e apoio.

Dedico

À Juliana Balbinotte, por ser uma pessoa especial, por sempre me apoiar, aconselhar e por todo amor concedido.

Ofereço

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Parra, pela confiança depositada em mim, desde o estágio de aprimoramento, por toda a atenção e orientação e pelo grande exemplo de ser humano e pesquisador;

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, por toda infra-estrutura oferecida;

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

Aos professores do Departamento de Entomologia e Acarologia, pelos valiosos ensinamentos repassados;

Aos grandes amigos entomólogos, Leandro, Gustavo, Tiago, Alexandre Diniz e Agustín, por todo auxílio durante os experimentos, pelo respeito, pelas “discussões entomológicas” e pela amizade;

Ao ex-funcionário Negri, e as funcionárias Neide e Arodí, por todo auxílio na execução deste trabalho;

Aos futuros engenheiros agrônomos Levi e Marina, pela inestimável ajuda na reta final do trabalho;

Aos estatísticos, Ricardo Alves Olinda, Elisabeth Hashimoto e Marinéia L. Haddad, pelas análises estatísticas dos dados;

À empresa BUG S/A pelo fornecimento do material biológico necessário para a execução do trabalho;

Ao professor Antônio Augusto Bianchi, pelo auxílio na tradução do abstract;

Ao pessoal do laboratório de pós-colheita de plantas hortícolas do Depto. de Produção Vegetal da Esalq/USP, aqui representados pelo Prof. Ângelo Jacomino, pelo auxílio nos cálculos de produção de CO₂.

Aos meus primeiro orientadores: Áurea T. Schmitt, Renato A. Pegoraro e Francisco C. Deschamps da Epagri-SC, pela introdução “ao mundo entomológico”, pela iniciação científica e pelo exemplo a ser seguido;

Aos colegas e ex-colegas do laboratório de biologia de insetos pelo convívio e coleguismo: Rízia, Sandra, Alexandre Begiato, Ângela, Adriana, Ademir, Alexandre Sene, Nádia, Mariana, Fernandinha, Patrícia, Bruno, Lucas, Cherre e Guilherme (Guaxupé);

A todos os colegas do departamento pelo convívio, troca de experiências, companheirismo e por tornar a vida de pós-graduação mais agradável, em especial: Amanda, Jaci, Gleidyane, Leandro Prado, Guilherme (Guilher), Fábio (e Gi), Eliane (Li), Tiago Zucchi, Lorena, Rafael Pitta, Fátima (e Anderson), André (Sinhá), Maria Fernanda, Ana Lia, Rodrigo, Priscila, Leonardo Pierre;

Aos amigos da república: Carlão, Cláudio, Samuel e Augusto, pela convivência, churrascos, almoços comunitários e momentos de descontração;

Aos grandes amigos: Marcelino, Rossano, Paulo Henrique, Fernando, Leonardo Scoz, Francis, Geraldo e Osmar Jr, que mesmo distantes sempre estiveram presentes, motivando e torcendo pelas minhas conquistas.

*“A grandeza e a prosperidade de uma nação
não dependem da abundância de suas rendas, nem
da resistência das suas fortalezas, nem tão pouco
da beleza de seus edifícios, mas reside no número
de cidadãos que dominam o conhecimento da
tecnologia e de homens de boa reputação, cultos,
patriotas e tementes a Deus.”*

Martinho Lutero

SUMÁRIO

RESUMO	11
ABSTRACT	13
LISTA DE FIGURAS	15
LISTA DE TABELAS	17
1 INTRODUÇÃO	19
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.2 Criação massal de <i>A. kuehniella</i> visando à produção de <i>Trichogramma spp.</i>	21
2.3 Dióxido de carbono (CO₂) X insetos	22
2.4 Efeito da temperatura na biologia de <i>A. kuehniella</i>	24
2.5 Influência de outros fatores na biologia de <i>A. kuehniella</i>	25
2.4.1 Fase de ovo	25
2.4.2 Fase de lagarta	25
2.4.3 Fase de pupa	27
2.4.4 Fase adulta	28
3 MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1 Efeito da temperatura no ciclo evolutivo (ovo-adulto) de <i>Anagasta kuehniella</i> (Zeller, 1879) e determinação das suas exigências térmicas	31
3.1.1 Período embrionário	31
3.1.2 Período lagarta-adulto	31
3.1.3 Exigências térmicas do período ovo-adulto e estimativa do número anual de gerações	32
3.2 Efeito da temperatura nas fases imaturas e nos adultos de <i>A. kuehniella</i> sobre a reprodução	32
3.2.1 Efeito da temperatura na qual <i>A. kuehniella</i> foi mantida de ovo até a morte do adulto, sobre a reprodução	32
3.2.2 Efeito da temperatura, sobre as fases larval e pupal, na postura de <i>A. kuehniella</i>	33
3.2.3 Efeito da temperatura sobre a fase adulta de <i>A. kuehniella</i>	33
3.3 Otimização do número de insetos por recipiente para criações massais de <i>A. kuehniella</i>	34
3.3.1 Efeito da densidade de ovos no incremento térmico dos recipientes de criação e na postura de <i>A. kuehniella</i>	34

3.3.2 Relação entre incremento térmico x densidade populacional x temperatura de criação na postura de <i>A. kuehniella</i>	35
3.4 Produção de dióxido de carbono (CO ₂) por bandeja de criação de <i>A. kuehniella</i> ..	36
3.5 Efeito do CO ₂ , na viabilidade do período ovo-adulto e na postura de <i>A. kuehniella</i> ...	37
3.6 Análise estatística	38
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4.1 Efeito da temperatura no ciclo evolutivo (ovo-adulto) de <i>Anagasta kuehniella</i> (Zeller, 1879) e determinação das suas exigências térmicas.	41
4.1.1 Período embrionário	41
4.1.2 Período lagarta-adulto	43
4.2 Efeito da temperatura nas fases imaturas e nos adultos de <i>A. kuehniella</i> sobre a reprodução	46
4.2.1 Efeito da temperatura na qual <i>A. kuehniella</i> foi mantida de ovo até a morte do adulto, sobre a reprodução.....	46
4.2.2 Efeito da temperatura, sobre as fases larval e pupal, na postura de <i>A. kuehniella</i> ...	50
4.2.3 Efeito da temperatura sobre a fase adulta de <i>A. kuehniella</i>	52
4.3 Otimização do número de insetos por recipiente para criações massais de <i>A. kuehniella</i>	55
4.3.1 Efeito da densidade de ovos no incremento térmico dos recipientes de criação e na postura de <i>A. kuehniella</i>	55
4.3.2 Relação entre incremento térmico x densidade populacional x temperatura de criação na postura de <i>A. kuehniella</i>	61
4.4 Produção de dióxido de carbono (CO ₂) por bandeja de criação de <i>A. kuehniella</i> ..	66
4.5 Efeito CO ₂ , na viabilidade do período ovo-adulto e na postura de <i>A. kuehniella</i> ...	68
5 CONCLUSÕES	75
REFERÊNCIAS	77

RESUMO

Otimização da criação de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879), hospedeiro alternativo de *Trichogramma* spp., baseando-se na temperatura, densidade larval e concentração de dióxido de carbono

O objetivo do trabalho foi estabelecer as condições ótimas para criação massal de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879), definindo a densidade larval por recipiente de criação, associando-a com temperatura e concentração de CO₂, produzidos pelo metabolismo larval. Para que este objetivo fosse atingido, foram avaliados: 1) o efeito da temperatura no ciclo evolutivo (ovo-adulto) de *A. kuehniella* para determinação das suas exigências térmicas; 2) efeito da temperatura nas fases imaturas e nos adultos de *A. kuehniella* sobre a reprodução, estudando-se o efeito de diferentes temperaturas (na faixa de 18 a 32°C) desde a fase de ovo até a morte dos insetos; efeito de diferentes temperaturas (18 a 32°C) durante as fases larval e pupal em adultos transferidos para 25°C e o efeito de diferentes temperaturas (18 a 32°C) nos adultos provenientes de imaturos mantidos a 25°C; 3) otimização do número de insetos por recipiente, para criações massais de *A. kuehniella*, avaliando-se o efeito da densidade de ovos no incremento térmico dos recipientes e na postura, bem como a relação entre incremento térmico x densidade populacional x temperatura de criação na postura de *A. kuehniella*; 4) produção de dióxido de carbono (CO₂) por bandeja de criação de *A. kuehniella* e o efeito do CO₂, na viabilidade do período ovo-adulto e na postura de *A. kuehniella*. A condição ótima de criação de *A. kuehniella* foi obtida quando as lagartas no interior das bandejas foram mantidas na temperatura de 25° C. Assim, considerando-se o incremento térmico entre 7 e 9°C, gerado pelo metabolismo larval, a temperatura das salas de criação deve ser mantida com temperaturas mais baixas durante o 4° e 5° ínstaes do desenvolvimento larval de *A. kuehniella*. A concentração máxima de CO₂, no interior da sala de criação, deve ser inferior a 1.200 ppm, sala esta contendo bandejas com 1 Kg de dieta (97% de farinha de trigo integral e 3% de levedura) “inoculadas” com 7.200 ovos, pois esta densidade proporcionou uma viabilidade satisfatória do período ovo-adulto (78%), produzindo ainda uma maior quantidade de ovos por bandeja e ovos de *A. kuehniella* mais pesados.

Palavras-chave: Criação massal; Hospedeiro alternativo; Fatores bióticos e abióticos; Dióxido de carbono

ABSTRACT

Optimization of the rearing of *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879), factitious host for *Trichogramma* spp., based on temperature, larval density and carbon dioxide concentration

The objective of this research was to establish the optimum conditions for mass rearing of *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879), defining the larval density for rearing container, associating it with temperature and concentration of the CO₂ produced by the larval metabolism. For this purpose, it was evaluated: 1) the effect of temperature on the life cycle (egg to adult) of *A. kuehniella* to determine the thermal requirements; 2) effect of temperature in the immature and adults stages of *A. kuehniella* on reproduction, studying the effect of different temperatures (from 18 to 32°C) from the egg stage until the death of the insects and effect of different temperatures (18 to 32°C) during the larval and pupal in adults transferred to 25°C and the effect of different temperatures (18 to 32°C) in adults emerging from immature kept at 25°C; 3) optimizing the number of insects per container, for mass rearing of *A. kuehniella*, evaluating the effect of egg density on temperature increment of containers and oviposition, as well as the relationship between increased temperature X population density X rearing temperature in oviposition of *A. kuehniella*, 4) carbon dioxide production (CO₂) per tray of rearing of *A. kuehniella* and the effect of CO₂ on the viability of the egg-adult and oviposition of *A. kuehniella*. The optimum condition of rearing *A. kuehniella* was obtained when the larvae inside the trays were kept at 25°C. Thus, considering the temperature increment between 7 and 9°C, generated by larval metabolism, the temperature in rearing rooms should be kept at lower temperatures during the 4th and 5th instars of the larval development of *A. kuehniella*. The maximum CO₂ concentration inside the rearing room should be lower than 1,200 ppm, this room containing trays with 1 kg of diet (97% of whole wheat flour and 3% of yeast) “inoculated” with 7,200 eggs, as this density provided satisfactory feasibility in the egg-adult period (78%), producing an even greater number of eggs per tray and heavier eggs of *A. kuehniella*.

Keywords: Mass rearing; Factitious host; Biotic and abiotic factors; Carbon dioxide

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1- Medidor de CO₂ de ambiente marca Testo® modelo 535/CO₂, utilizado no experimento produção de dióxido de carbono (CO₂) por bandeja de criação de *Anagasta kuehniella*: a) processador com “display”; b) sonda de infravermelho 37
- Figura 2- Duração (dias) e velocidade de desenvolvimento de ovos de *A. kuehniella* em diferentes temperaturas. UR: 70 ± 10% e fotofase: 14h..... 43
- Figura 3- Duração (dias) e velocidade de desenvolvimento do período lagarta-adulto de *A. kuehniella* em diferentes temperaturas. UR: 70 ± 10% e fotofase: 14h 44
- Figura 4- Duração (dias) e velocidade de desenvolvimento do período ovo-adulto de *A. kuehniella* em diferentes temperaturas. UR: 70 ± 10% e fotofase: 14h 46
- Figura 5 - Deformações observadas em *A. kuehniella* provenientes de imaturos mantidos em temperaturas acima de 28°C: a) Casal morto devido ao acoplamento mal sucedido; b) Fêmea com asa deformada; c) estrutura de acoplamento do órgão reprodutor masculino deformado, apresentando-se maior e aparentemente “quitinizado”; d) estrutura de acoplamento do órgão reprodutor masculino não deformado, apresentando-se em tamanho normal recoberto por escamas 49
- Figura 6 - Incremento térmico (°C) diário do interior das bandejas de criação, em relação ao ambiente, “inoculadas” com as diferentes densidades de ovos, até a emergência dos primeiros adultos de *A. kuehniella*. Temperatura: 25 ± 2°C, UR: 70 ± 10% e fotofase: 14h..... 56
- Figura 7 - Diferença do tamanho de fêmeas de *A. kuehniella* emergidas de bandejas com densidade de 3.600 ovos/bandeja (esquerda) e fêmea emergida da densidade de 18.000 ovos/bandeja (direita) 56
- Figura 8 - Produção de CO₂ por diferentes densidades de bandejas por m³ em sala de criação de *A. kuehniella* com, aproximadamente, 10.000 lagartas de 5º ínstar, em salas de 9,79 m³; 25 ± 3°C, fotofase: 14h 67
- Figura 9 - Concentração de CO₂ (ppm) durante o período ovo-adulto de *A. kuehniella*, no interior das salas de criação com diferentes quantidades de bandejas. Temp.: 25 ± 3°C, fotofase: 14h. 688

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1- Duração em dias e viabilidade (%) do período embrionário de *A. kuehniella* em diferentes temperaturas. UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 14h.....42
- Tabela 2- Duração (dias); viabilidade (%) e razão sexual do período lagarta-adulto de *A. kuehniella* em diferentes temperaturas. UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 14h 44
- Tabela 3 - Peso de fêmeas, número de ovos por fêmea e longevidade de machos e fêmeas de *A. kuehniella* mantidos em diferentes condições de temperatura durante o período ovo-morte do adulto. UR: $50 \pm 10\%$, fotofase: 14h47
- Tabela 4 - Viabilidade do período embrionário e peso dos ovos colocados por fêmeas de *A. kuehniella* provenientes das diferentes condições térmicas e posteriormente mantidos a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, UR: $50\% \pm 10$ e fotofase: 14h48
- Tabela 5 - Número de ovos por fêmea e longevidade de machos e fêmeas de *A. kuehniella* criados em diferentes condições de temperatura durante os estágios larval e pupal e transferidos para a temperatura de 25°C após a emergência. UR: $50 \pm 10\%$ e fotofase: 14h 51
- Tabela 6 - Duração e viabilidade do período embrionário de ovos colocados por fêmeas de *A. kuehniella* provenientes das diferentes condições térmicas, posteriormente mantidos a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, UR: $50 \pm 10\%$ e fotofase: 14h 52
- Tabela 7 - Número de ovos por fêmea e longevidade de machos e fêmeas de *A. kuehniella* mantidos durante as fases imaturas a 25°C e transferidos para diferentes condições de temperatura na fase adulta. UR: $50 \pm 10\%$ e fotofase: 14h 53
- Tabela 8 - Viabilidade do período embrionário e peso dos ovos colocados por fêmeas de *A. kuehniella* mantidas durante as fases imaturas a 25°C e transferidas para diferentes condições de temperatura durante o estágio adulto. UR: $50 \pm 10\%$ e fotofase: 14h.....54
- Tabela 9 - Média do peso, número de ovos por fêmea, longevidade de adultos de *A. kuehniella*, emergidos de bandejas de criação “inoculadas” com diferentes densidades de ovos e incremento térmico máximo em relação ao ambiente para cada densidade de ovos. Temperatura: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 14h 57
- Tabela 10 - Média do peso total de insetos, estimativa média do número de insetos, viabilidade estimada do período ovo-adulto e número de ovos produzidos por bandeja, provenientes de *A.*

kuehniella emergidas de bandejas de criação “inoculadas” com diferentes densidades de ovos. Temperatura $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 14h.....59

Tabela 11 - Viabilidade, peso e duração do período embrionário dos ovos provenientes de fêmeas de *A. kuehniella* emergidas das bandejas com diferentes densidades de ovos. Temp. $25 \pm 1^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 14h60

Tabela 12 - Média do peso de adultos (machos e fêmeas) e número de ovos/fêmea de *A. kuehniella* emergidas de bandejas de criação “inoculadas” com diferentes densidades de ovos e mantidas sob diferentes condições de temperatura e temperatura máxima registrada dentro das bandejas de criação. UR: $50 \pm 10\%$ e fotofase: 14h62

Tabela 13 - Média do peso total de insetos, estimativa média do número de insetos, viabilidade do período ovo-adulto e número de ovos produzidos por bandeja, provenientes de *A. kuehniella* emergidas de bandejas de criação “inoculadas” com diferentes densidades de ovos e mantidos sob diferentes condições de temperatura. UR: $50 \pm 10\%$ e fotofase: 14h64

Tabela 14 - Viabilidade e peso de ovos provenientes de *A. kuehniella* emergidas de bandejas de criação “inoculadas” com diferentes densidades de ovos e mantidas sob diferentes condições de temperatura. Temp. $25 \pm 1^\circ\text{C}$, UR: $50 \pm 10\%$ e fotofase: 14h.....65

Tabela 15 – Concentração de CO_2 (ppm) produzido pelas bandejas de *A. kuehniella*, no interior das salas de $9,79 \text{ m}^3$, quantidade de CO_2 no interior das salas de criação (L) e quantidade de CO_2 produzido por bandeja por hora (mL); temperatura: $25 \pm 1^\circ\text{C}$, fotofase: 14h67

Tabela 16 - Número de bandejas por m^3 , média do peso, número de ovos por fêmeas, longevidade de *A. kuehniella*, emergidos de bandejas de criação mantidas em salas com diferentes concentrações de CO_2 (metabólico) e concentração máxima de CO_2 (ppm) no interior das salas. Temperatura: $25 \pm 3^\circ\text{C}$, UR: $60 \pm 10\%$, fotofase: 14h e 350 ± 100 ppm de CO_270

Tabela 17 - Média do peso total de insetos, estimativa média do número de insetos, viabilidade do período ovo-adulto e número de ovos produzidos por bandeja, proveniente de *A. kuehniella* emergidos de bandejas de criação mantidas em salas com diferentes concentrações de CO_2 (metabólico). Temperatura $25 \pm 3^\circ\text{C}$, UR: $60 \pm 10\%$, fotofase: 14h e 350 ± 100 ppm de CO_272

Tabela 18 - Viabilidade e peso de ovos provenientes de fêmeas de *A. kuehniella* emergidas de bandejas de criação mantidas em salas com diferentes concentrações de CO_2 (metabólico). Temperatura $25 \pm 3^\circ\text{C}$, UR $60 \pm 10\%$, fotofase de 14h e 350 ± 100 ppm de CO_2 73

1 INTRODUÇÃO

O uso indiscriminado de agroquímicos pode resultar na contaminação do solo, do lençol freático, de alimentos produzidos e pode ainda intoxicar o homem, reduzir a biodiversidade, além de selecionar populações resistentes a tais produtos. A busca por alternativas eficientes e menos agressivas ao meio ambiente e ao homem é um desafio permanente; uma destas alternativas é o MIP (Manejo Integrado de Pragas), que é um conjunto de medidas que visa manter as pragas abaixo do nível de dano econômico, levando-se em conta critérios econômicos, ecológicos e sociais (NORRIS; CASWELL-CHEN; KOGAN, et al., 2003).

Uma das bases do MIP é a mortalidade natural no agroecossistema (PARRA et al., 2002) representada pelos inimigos naturais, os quais, em certas circunstâncias, podem regular as populações de pragas (NICHOLLS; ALTIERI; SANCHES, 1999).

Segundo Parra et al. (2002) o controle biológico pode ser: Clássico, Natural e Aplicado, este último consistindo na liberação de inimigos naturais em grande escala (liberações massais) e que teve um grande aumento a partir da década de 60, com o desenvolvimento de dietas artificiais para criação de insetos, possibilitando a criação em grande escala destes agentes de controle biológico. Esta técnica mostra-se extremamente viável e segundo Van Lenteren (2008), aproximadamente 20 milhões de hectares são tratados com agentes de controle biológico provenientes de criações massais no mundo. No Brasil, somente na cultura da cana-de-açúcar, 3.500.000 de ha são tratados com agentes de controle biológico, uma área com uma superfície maior do que a da Bélgica.

Dentre os agentes de Controle Biológico Aplicado, os que têm maior destaque são os parasitoides de ovos do gênero *Trichogramma*, amplamente utilizados em várias partes do mundo com mais de 18 espécies sendo criadas massalmente para controle de pragas em 16 países, numa área que chegou a ser de 18 milhões de ha (HASSAN, 1997). Somente na Rússia, de 3 a 10 milhões de hectares são “tratados” anualmente com *Trichogramma* spp., visando ao controle de pragas em diferentes culturas (Van LENTEREN, 2008). No Brasil, em cerca de 500.000 ha de cana-de-açúcar são liberados *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988, para controle de *Diatraea saccharalis*. (Fabr., 1794) (PARRA¹, informação pessoal).

O sucesso do uso destes parasitoides se deve à possibilidade de criá-los sobre ovos de hospedeiros alternativos, já que o número de insetos exigido para liberação é muito grande e

¹ PARRA, J.R.P. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Departamento de Entomologia e Acarologia.

difícil de ser obtido sobre ovos de hospedeiros naturais A traça-da-farinha, *Anagasta kuehniella* (Zeller 1879), é um dos hospedeiros alternativos que proporciona melhor qualidade nutricional aos seus parasitoides (LEWIS et al., 1976) e é utilizada em programas de controle biológico na Europa e no Brasil. Entretanto, tais criações são afetadas por fatores bióticos a abióticos, destacando-se a temperatura, bem como parasitoides como *Bracon hebetor* (Say 1857) que parasitam o último ínstar larval de *A. kuehniella*, atraídos pelo “frass” produzido pela lagarta (PARRA et al., 1996), fungos que são uma constante nas criações quando há excesso de umidade ou mesmo ácaros, favorecidos por condições de alta umidade (PARRA, 1997). Outro fator que influencia o sucesso de criações massais desta traça é o número de lagartas por recipiente de criação. Alguns laboratórios comerciais utilizam bandejas de 40 x 25 cm de base por oito cm de altura e, em cada uma destas bandejas são mantidas cerca de 10.000 lagartas. Nestas grandes criações, chegam a ser colocadas 42 bandejas por m², o que acarreta excessivo acúmulo de CO₂, proveniente da respiração das lagartas nas salas de criação e um incremento térmico considerável dentro dos recipientes o que, em última análise, pode levar a prejuízos na criação ou elevar os custos de produção, com o maior gasto de energia elétrica.

Dadas às características da produção de *A. kuehniella*, neste trabalho pretende-se definir as condições ótimas de criação da referida traça com relação à densidade larval por recipiente de criação, associando-a com temperatura e concentração de CO₂, produzidos pelo metabolismo larval. Para que este objetivo seja atingido, será avaliado o efeito de diferentes densidades larvais de *A. kuehniella*, em recipientes de criação, no incremento térmico do interior do recipiente e como este incremento influencia aspectos reprodutivos do inseto; paralelamente, pretende-se avaliar o efeito da temperatura e do CO₂ sobre diferentes estágios de *A. kuehniella* bem como na sua reprodução e desenvolvimento.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.2 Criação massal de *A. kuehniella* visando à produção de *Trichogramma* spp.

Parasitoides de ovos do gênero *Trichogramma* são os inimigos naturais mais utilizados em programas de controle biológico aplicado no mundo (SMITH, 1996), sendo utilizados em diversas culturas, com cerca de 18 espécies criadas massalmente e liberadas em 16 países numa área correspondente a 18 milhões de hectares (HASSAN, 1997). O grande sucesso destes agentes se deve à possibilidade de serem criados e multiplicados em laboratório em ovos de hospedeiros alternativos. O primeiro relato da possibilidade de criação de *Trichogramma* spp., em ovos de hospedeiros alternativos, é atribuído à Flanders (1927), que, na oportunidade, utilizou ovos de *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819) para criação de *Trichogramma minutum* Riley.

Segundo Parra (1997), hospedeiros alternativos caracterizam-se por serem capazes de suprir as exigências nutricionais dos insetos que deles se alimentam, gerando insetos de qualidade e com baixo custo, sendo que estes não são os hospedeiros que os parasitoides utilizam na natureza. A maioria dos hospedeiros alternativos são traças de farinhas e/ou de pragas de produtos armazenados, como *S. cerealella*, *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865) e *A. kuehniella*, embora os chineses usem ovos ou óvulos de diversas espécies de bichos-da-seda para criação de *Trichogramma* spp. (PARRA, 1997).

Embora *S. cerealella* seja um hospedeiro alternativo mais fácil de ser criado quando comparado à *A. kuehniella* (HASSAN, 1997), Lewis et al. (1976) demonstraram que ovos de *A. kuehniella* produzem parasitoides mais fecundos e longevos do que os provenientes de ovos de *S. cerealella* e relataram que a escolha da traça pode influenciar diretamente no sucesso de um programa de controle biológico.

A criação massal de *A. kuehniella* para programas de controle biológico foi primeiramente desenvolvida por um grupo de pesquisadores franceses (PARRA, 1997). No Brasil, os programas de controle biológico aplicado, utilizando *Trichogramma* spp., seguiram o modelo francês, utilizando *A. kuehniella* como hospedeiro alternativo (MORAES; BRUN; SOARES, 1983; PARRA et al., 1989; STEIN; PARRA 1987).

A criação de hospedeiros alternativos exige muitos cuidados, pois fatores bióticos e abióticos podem afetar o sucesso da criação. Cerutti et al. (1992) e Parra et al. (1989) relataram que a quantidade de ovos de *A. kuehniella*, por caixa de criação, influencia parâmetros como

viabilidade das lagartas, peso dos adultos, fertilidade e duração do período ovo-adulto. A predação das lagartas e ovos por ácaros, formigas, fungos e o parasitismo por *Bracon. hebetor* (Say, 1857) (inimigo natural de *A. kuehniella*) também constituem um problema para a criação massal desta traça. Para minimizar estes problemas, a temperatura e a umidade relativa da sala devem ser mantidas baixas (22°C e 30% UR) (PARRA, 1997), o que onera os custos de produção devido ao consumo de energia elétrica e alongamento do ciclo da traça.

2.3 Dióxido de carbono (CO₂) X insetos

Para aumentar o rendimento na produção de *A. kuehniella* em laboratórios de criação em larga escala, coloca-se o máximo possível de bandejas por sala de criação; em geral, são colocadas aproximadamente 42 por m², considerando-se bandejas de 40 x 25 cm de base e 8 cm de altura, com cerca de 10.000 lagartas em cada uma delas. A troca de ar com o exterior deve ser controlada, evitando-se o consumo excessivo de energia elétrica para o resfriamento da sala e as portas devem ser mantidas fechadas para evitar a entrada do parasitoide *B. hebetor*, ácaros e patógenos. Assim, no interior destas salas, a concentração de dióxido de carbono (CO₂) aumenta consideravelmente, em função da respiração das larvas, podendo ultrapassar 10.000 ppm (1%), concentração muito maior do que a do ar atmosférico que é de 300 ppm (0,03%) em média (COELHO JR.; PARRA, dados preliminares).

Na literatura existem muitos trabalhos referentes ao efeito de CO₂ em insetos, sendo que trabalhos mais atuais são, em sua maior parte, relacionados ao efeito de alterações do CO₂ atmosférico, ocasionados pelo efeito estufa, em diferentes parâmetros dos insetos, como comportamento, reprodução, parasitismo, mortalidade, hábito alimentar, interações tróficas, entre outros (CORNELISSEN; STILING; DRAKE, 2003; DELUCIA et al., 2005; DEUTSCH et al., 2008; GUERENSTEIN; HILDEBRAND, 2008; HUGHES; BAZZAZ, 2001; STILING; CORNELISSEN, 2007).

Segundo Schroeder et al. (2006) o aumento do CO₂ do solo para 550 ppm aumenta a produção de ovos de *Diabrotica virgifera virgifera* (LeConte, 1868) em 50%; os autores concluíram que o CO₂ aumenta a produção de ovos porque os insetos reconhecem a presença do seu hospedeiro por meio do CO₂ emitido pelas raízes e, desta maneira, a elevada concentração de CO₂ no solo induziria o inseto a ovipositar mais.

A medição da produção de CO₂ ou da taxa respiratória é um método utilizado em pesquisas relacionadas às pragas de grãos armazenados, pois o CO₂ emitido pelos insetos relaciona-se diretamente ao oxigênio consumido, possibilitando o estudo do “status” fisiológico dos insetos, grau de infestação e eficiência de inseticidas. Singh, Campbell e Sinha (1976), Sinha, Madrid e White (1986), White e Sinha (1981) mediram respectivamente o consumo de oxigênio de *Sitophilus oryzae* (L., 1763), *Oryzaephilus surinamensis* (L., 1758) e *Ephestia cautella* (Walker, 1863) com o objetivo de relacionar estes dados a outros parâmetros biológicos e obter o fluxo energético dessas pragas, informação muito importante para a construção de modelos matemáticos de previsão de ocorrência e nível de dano destes insetos de armazéns.

Fatores abióticos podem influenciar a emissão de CO₂ por insetos. Birch (1947) estudando *Calandra oryzae* (L., 1763) e *Rhyzopertha dominica* (Fabr., 1792), relatou que a temperatura influencia diretamente a taxa de consumo de oxigênio. Assim, quanto maior a temperatura, maior a taxa de consumo de oxigênio, o que reflete numa maior produção de CO₂; no mesmo trabalho, o autor relatou que a umidade do ar não altera a taxa de consumo de oxigênio. Navarro e Calderon (1974) referiram que altas concentrações de CO₂ ocasionam maior perda de água nos insetos mantidos em baixa umidade devido à abertura dos espiráculos, o que pode levar os insetos à morte. Ali Niaze (1971), Carlson (1968), Lindgren e Vincent (1970) relataram que quanto maior a concentração de CO₂ menor é a taxa respiratória dos insetos. Emecki (2004) determinou a taxa respiratória de *R.dominica* em concentrações muito baixas de oxigênio e concluiu que quanto menor a concentração de oxigênio, menor é a taxa respiratória. Segundo Leppla e Turner (1975) e Turner et al. (1977) a emissão de CO₂ por *Trichoplusia ni* (Hübner, 1802) é influenciada pelo comprimento de onda e intensidade da luz às quais a mariposa é exposta

Cofie-Agbolor et al. (1995) e Vicent e Lindgren (1965) estudaram a influência da idade dos insetos na produção de CO₂, verificando que quanto mais velho o inseto menor a taxa respiratória. Nicolás e Sillans (1989) revisaram o efeito imediato e latente de dióxido de carbono nos insetos e constataram que o CO₂ afeta até mesmo a aprendizagem e memória de insetos sociais.

Na literatura são poucos os trabalhos que relatam a influência do CO₂ na reprodução de insetos, Moloo e Kutuz (1975 apud NICOLÁS; SILLANS 1989), registraram alterações no comportamento sexual de espécies de *Glossina*, demonstrando que a exposição ao CO₂ pode alterar a frequência de cópula na espécie. A combinação da exposição de *Plodia interpunctella*

(Hübner, 1813) a 96% de CO₂ por 1h e fotofase de 24h reduziu em 35% a oviposição da espécie (LUM; PHILLIPS, 1972). Lum e Flaherty (1972) e Lum (1974), também trabalhando com *P. interpunctella*, observaram uma redução de 30% na capacidade de postura da espécie em altas concentrações de CO₂. Segundo Press, Flaherty e Arbogast (1973) a maturação do ovário de *Tribolium castaneum* (Herbst, 1763) não ocorre devido à exposição a altas concentrações de CO₂ e a produção de ovos cai, aproximadamente, 80%.

2.4 Efeito da temperatura na biologia de *A. kuehniella*

A duração do período embrionário varia de 3,1 a 21 dias nas temperaturas de 32 e 13°C respectivamente, sendo que a 33°C ocorre uma diminuição na velocidade do desenvolvimento (3,7 dias) e a viabilidade média é muito baixa (16%); nas temperaturas de 8 e 10°C há desenvolvimento embrionário porém não há eclosão (VOUTE, 1936 apud DAVISON, 1944). O período embrionário de *A. kuehniella* a 29,6°C é de 3,75 dias segundo Janish (1925 apud DAVISON, 1944); Voute (1936 apud DAVISON, 1944) relatou um período embrionário de 3,3 dias a 30°C; Davison (1944) discutiu sobre esta diferença no período embrionário em temperaturas praticamente iguais e sugeriu que esta diferença está relacionada com a temperatura na qual os adultos de *A. kuehniella* foram expostos para realizarem a postura; no caso, os insetos da pesquisa de Janish (1925) foram expostos à temperatura de 18°C na de Voute a 30°C.

Segundo Brindley (1930) a duração do período embrionário é de quatro dias à temperatura de 30°C, dados que corroboram aos encontrados por Bell (1975) que relatou um período embrionário de 16,6; 7,8; 5,2 e 4 dias nas respectivas temperaturas de 15, 20, 25 e 30°C com umidade relativa de 70%. Stein e Parra (1987) relataram o período embrionário de 10,17; 9,49; 6,67; 5,02; 3,99; e 3,84 dias nas temperaturas de 18, 20, 22, 25, 30, 32°C, respectivamente.

Quanto a duração do período larval, Brindley (1930) relatou que tal duração *A. kuehniella* mantida a 29,7°C e 73% de UR foi de 41 dias, resultado semelhante ao descrito por Stein e Parra (1987) que encontraram uma duração para o período de 98,22; 79,97; 61,61; 45,49; 36,90; 41,81 nas temperaturas de 18, 20, 22, 25, 30 e 32°C com UR de 70%, respectivamente. O período pupal relatado por Brindley (1930) é de oito dias na temperatura de 29,7°C; Stein e Parra (1987) relataram um período pupal de 10,14 dias a 25°C. Na temperatura constante de 12,5°C e 70% de UR, *A. kuehniella* não realizou acasalamento, no entanto, este foi observado aumentando-se a UR para 75% na mesma temperatura (12,5°C) (JACOB; COX, 1977).

2.5 Influência de outros fatores na biologia de *A. kuehniella*

2.4.1 Fase de ovo

Segundo Brindley (1930) os ovos de *A. kuehniella* possuem forma oval e alongada com coloração branca levemente iridescente, quando recém colocado, tornando-se amarelo claro com o passar do desenvolvimento embrionário. Possuem 0,58 mm de comprimento, variando entre 0,53 e 0,64 e, em média, os ovos possuem 0,33 mm de largura, variando entre 0,28 e 0,37 mm; cada ovo pesa em média 23 µg, variando entre 21 e 25µg.

A combinação de baixas temperaturas com altas UR pode inviabilizar os ovos de *A. kuehniella*. Assim, Bell (1975) encontrou mortalidade total de ovos mantidos a 10°C com 70% de umidade relativa; por outro lado, ovos mantidos a 15°C e UR de 25% apresentaram uma viabilidade 56,7% e aqueles levados a 15 e 30°C com umidade relativa de 70% apresentaram viabilidade superior a 90% (93,5 e 95,5%, respectivamente).

Segundo Jacob e Cox (1977), a UR na faixa de 40 a 75% não influencia a duração do período embrionário de *A. kuehniella*; apenas em UR extremamente baixas (0 e 15 % de UR) houve um aumento na duração do referido período.

A viabilidade de ovos oriundos de casais mantidos em fotofase de 24 h, cujo desenvolvimento larval se deu na mesma condição de luz apresentaram-se inviáveis; ovos colocados por casais mantidos em 24h de escotofase, casais estes, provenientes de imaturos expostos à mesma condição de fotoperíodo, apresentaram viabilidade de 56,5% e ovos colocados por casais cujos períodos imaturos foram expostos à 12 h de luz apresentaram viabilidade de 84% (CYMBOROWSKI; GIEBULTOWICZ, 1976)

2.4.2 Fase de lagarta

As lagartas de *A. kuehniella* possuem coloração creme e, imediatamente, após a eclosão possuem o corpo coberto por longas setas com cápsula cefálica medindo 0,199 mm de largura, com 0,87 mm de comprimento e 0,018 mg de peso (BRINDLEY, 1930). Durante o desenvolvimento larval, *A. kuehniella* pode apresentar 5 ínstaes, quando alimentadas com farinha de trigo integral (BRINDLEY, 1930), podendo, porém, apresentar 6 ínstaes (STEIN; PARRA, 1987). A largura da cápsula cefálica, com o passar do desenvolvimento larval está compreendida na faixa de 0,199 a 1,110 mm, segundo Brindley (1930) resultado semelhante aos

relatados por Stein e Parra (1987) comparando duas dietas artificiais; no trabalho de Stein e Parra (1987), a largura da cápsula cefálica variou de 0,20 a 1,15 mm no primeiro e último ínstares utilizando-se uma dieta à base de farinha de trigo integral e de 0,19 a 1,20 mm para uma dieta à base de farinha de trigo, farinha de milho, aveia e alimento para cães.

A UR influencia significativamente o desenvolvimento larval de *A. kuehniella*. Jacob e Cox (1977) demonstraram que o período de desenvolvimento larval aumenta em lagartas mantidas a 40% de UR em relação àquelas mantidas a 75% de UR, nas temperaturas de 12, 15, 18, 20, 22, 25 e 28°C. Assim, na temperatura de 25°C e 15% de UR a duração do período praticamente dobra (92,2 dias) e a 0% de UR e 25°C, este valor é triplicado (161,5 dias), em relação ao período de desenvolvimento larval de lagartas mantidas a 75% de UR e 25°C (59,6 dias); na temperatura de 12°C lagartas mantidas em UR abaixo de 70% não completaram o desenvolvimento.

A viabilidade larval também é afetada pela umidade relativa, pois, Jacob e Cox (1977) encontraram as maiores viabilidades (90 e 95%) na faixa de 70 e 75% de UR, em relação aos valores observados em UR de 40 e 60%, (70 e 74%); porém, mesmo em UR de 0%, 50% das lagartas são viáveis. Este resultado razoável de viabilidade larval em baixa umidade se deve a um mecanismo fisiológico, em que o inseto metaboliza água por meio de alimentação extra (FRAENKEL; BLEWETT, 1944 apud JACOB; COX, 1977) e por ser uma praga de grãos armazenados (ambiente seco). Stein e Parra (1987), comparando duas dietas na temperatura de 25°C e 70%UR, encontraram viabilidades larvais entre 89,29 e 79,76%.

Cox et al. (1981), relataram diapausa numa linhagem de *A. kuehniella* proveniente da Escócia (Glasgow), demonstrando que o número de indivíduos em diapausa aumentou em condições de temperaturas baixas com maior número de horas de escuro, sendo que em fotoperíodo 14:10 (fotofase:escotofase) não se observou tal interrupção no desenvolvimento dos insetos.

Além de fatores ambientais e nutricionais, outros fatores intrínsecos a *A. kuehniella* podem afetar o desenvolvimento do inseto. A densidade populacional no interior das bandejas de criação, por exemplo, pode afetar significativamente a viabilidade das fases larval e pupal, o peso dos insetos emergidos, a quantidade de ovos colocados por fêmea e a duração do período ovo-adulto (CERUTTI et al., 1992; PARRA et al., 1989). Os autores demonstraram que quanto maior a densidade de lagartas por recipiente de criação, menor é o peso dos adultos, viabilidade das

fases larval e pupal e quantidade de ovos colocados por fêmea. Bell (1976) relatou que a viabilidade de lagartas mantidas em um recipiente de 8 cm de diâmetro com 50g de dieta cai de 92% na condição de 100 lagartas/recipiente para 62% na condição de 800 lagartas/recipiente.

No interior da bandeja de criação também ocorre um incremento térmico devido ao metabolismo larval segundo Wishart (1942 apud DAUMAL; BOINEL, 1994) e este incremento térmico pode levar à proliferação de patógenos. Cerutti et al. (1992) relataram que o incremento térmico no interior da bandeja de criação está relacionado com a densidade larval, sendo que na densidade de 1600 ovos/Kg de dieta, o incremento é de aproximadamente 5°C e na densidade de 8000 ovos/Kg de dieta, o incremento é de cerca de 10°C.

Daumal e Boinel (1994) relataram que a fecundidade está relacionada com as condições oferecidas às lagartas, principalmente de último ínstar e que há uma relação estreita entre as condições de temperatura durante o período larval, peso das larvas e fecundidade. Os autores também referiram que a exposição de larvas de último instar às baixas temperaturas pode resultar em machos estéreis ou que produzam poucos espermatozóides, fatores que afetam drasticamente a produção de ovos por esta traça.

2.4.3 Fase de pupa

Imediatamente após a pupação, a pupa apresenta coloração verde-claro e, logo a seguir, esta muda para marrom avermelhada no dorso e amarelo escuro na superfície ventral da pupa; ela possui, em média, 9 mm de comprimento e 2,21 mm de largura (BRINDLEY, 1930). Stein e Parra (1989) encontraram um peso de 20,8 mg para pupas de machos e 23,4 mg para pupas de fêmeas, provenientes de lagartas alimentadas com uma dieta à base de farinha de trigo integral e de 23 mg para pupas de machos e 25,1 mg para pupas de fêmeas provenientes de lagartas alimentadas com uma dieta à base de farinha de trigo, farinha de milho, aveia e alimento para cães.

Segundo Jacob e Cox (1977) a umidade não afeta, de maneira significativa, a duração e viabilidade do período pupal de *A. kuehniella*, embora a 12°C e 70% de UR não tenha havido emergência; a duração do período pupal, segundo tais autores variou de 9 dias a 28°C a 70 dias a 12°C.

O período pupal de insetos mantidos em escuro total foi 3 dias mais longo do que aqueles mantidos em fotofase de 12h e condição de luz total; as pupas mantidas no escuro por 2 e 4h por

dia produziram ovos inférteis; por outro lado, adultos mantidos no escuro por 6 horas produziram ovos férteis, o que demonstra que um período de escuro de, no mínimo 6h, é essencial para a reprodução de *A. kuehniella* (CYMBOROWSKI; GIEBULTOWICZ, 1976).

2.4.4 Fase adulta

Os adultos de *A. kuehniella* são mariposas acinzentadas; os machos pesam 11,5 mg e as fêmeas 15,7 mg sendo a longevidade de machos e fêmeas de 6 e 7 dias respectivamente, em temperatura média de 29,7°C e 73% de UR (BRINDLEY, 1930). Parra et al. (1989) relataram que adultos (machos e fêmeas) têm maior peso na primeira semana de coleta, 18,87 mg, em relação àqueles emergidos na nona semana de coleta, ou seja, 8,50 mg. O peso de adultos, descrito por Cerutti et al. (1992), é maior do que os descritos nos demais trabalhos. Assim, num tratamento que possui 1600 ovos/Kg de dieta, os autores obtiveram fêmeas pesando 32 mg e machos 19 mg; no tratamento com 8000 ovos/Kg de dieta os autores relataram fêmeas de 24 mg e machos de 16 mg. A longevidade relatada por Stein e Parra (1989) foi de 10,48 dias para machos e seis dias para fêmeas, provenientes de lagartas alimentados com uma dieta à base de farinha de trigo integral e de 11,22 dias para machos e 6,65 dias para fêmeas provenientes de lagartas alimentadas com uma dieta à base de farinha de trigo, farinha de milho, aveia e alimento para cães.

A oviposição de *A. kuehniella* em condição natural se inicia logo após o início da noite (BRINDLEY, 1930) sendo o período de pré-oviposição de 1,2 dias (STEIN; PARRA, 1987). Brindley (1930) relatou que as fêmeas de *A. kuehniella* colocam, em média, 167 ovos, com o mínimo de 25 e o máximo de 352 ovos, Stein e Parra (1987) observaram que fêmeas provenientes de adultos alimentados com farinha de trigo integral colocaram, em média, 332 ovos e fêmeas alimentadas com dieta a base de farinha de trigo, farinha de milho, aveia e alimento para cães colocaram 351 ovos.

A densidade populacional no interior das bandejas de criação influencia na quantidade de ovos colocados por fêmea; assim, Parra et al. (1989) relataram que fêmeas provenientes de bandejas “inoculadas” com aproximadamente 7.200 ovos/Kg de dieta depositaram 419 ovos enquanto que, fêmeas provenientes de bandejas “inoculadas” com 36.000 ovos/Kg de dieta colocaram 366 ovos, em média.

Segundo Bell (1981) as fêmeas colocam um maior número de ovos na primeira hora de escuro total; assim, após serem mantidas durante 18 h em luz total, colocaram 456 ovos na primeira hora de escuro; por outro lado, fêmeas que permaneceram 23 horas no escuro e depois por 1 h em luz total colocaram apenas 29 ovos na nova fase de escuro. Condições de luz total e escuro total também afetam a fecundidade de *A. kuehniella*, sendo que nas duas condições, de escuro total e luz total, o número médio de ovos colocados foi de cinco e 89, respectivamente, com viabilidades de 0 e 56,6%; por outro lado, em fotofase de 12h a média de postura foi de 141, ovos com 84% de viabilidade (CYMBOROWSKI; GIEBULTOWICZ, 1976).

Daumal e Boinel (1994) relataram o comportamento de oviposição de *A. kuehniella*, detalhando, o hábito do inseto ovipositar em pequenas fendas, formadas por papelões ou insetos mortos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Efeito da temperatura no ciclo evolutivo (ovo-adulto) de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) e determinação das suas exigências térmicas

3.1.1 Período embrionário

Para avaliar o efeito de diferentes temperaturas na duração e viabilidade do período embrionário de *A. kuehniella*, inocularam-se 10 ovos, recém colocados (0 a 12h de idade), em placas de Petri com 8,5 cm de diâmetro, tendo o fundo forrado com papel filtro levemente umedecido; estas placas foram vedadas com filme plástico de PVC (Magipack®) para evitar a fuga das lagartas recém eclodidas. Estas placas foram acondicionadas em câmaras climatizadas reguladas nas temperaturas de 18, 20, 22, 25, 28, 30 e $32 \pm 1^{\circ}\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 14h. Para cada temperatura foram preparadas 10 placas (repetições), totalizando 100 ovos por temperatura. Diariamente, avaliou-se o número de lagartas eclodidas para determinação da duração e viabilidade do período.

Determinaram-se a constante térmica (K) e o limiar térmico inferior, ou temperatura base (T_b) por meio do método da hipérbole, baseando-se na duração do período embrionário, calculada por ponderação das médias (HADDAD; PARRA, 1984).

3.1.2 Período lagarta-adulto

Para avaliar o efeito da temperatura na duração e viabilidade do período lagarta-adulto de *A. kuehniella* e na razão sexual, inoculou-se uma lagarta recém eclodida em um tubo de vidro de 7,5 x 1 cm, contendo em seu interior 0,1 g de dieta (97% de farinha de trigo integral + 3% de levedura) e um pedaço de papelão, utilizado pela lagarta como substrato de pupação, sendo o vidro tampado com um rolo de algodão hidrófobo. Posteriormente, os tubos de vidro foram mantidos em câmaras climatizadas reguladas nas temperaturas de 18, 20, 22, 25, 28, 30 e $32 \pm 1^{\circ}\text{C}$, UR: $40 \pm 10\%$ e fotofase: 14h. Para cada temperatura foram preparados 100 tubos de vidro (repetições). Diariamente, avaliou-se o número de adultos emergido para determinação da duração e viabilidade do período. Determinou-se a razão sexual ($rs = n^{\circ}$ de fêmeas/ n° de fêmeas + n° de machos) com base nos adultos emergidos. As exigências térmicas foram calculadas

conforme procedimento descrito no item 3.1.1, levando-se em consideração a duração do período lagarta-adulto calculado por ponderação de médias.

3.1.3 Exigências térmicas do período ovo-adulto e estimativa do número anual de gerações

Com os dados da duração do período embrionário e do período ovo-adulto, calcularam-se as exigências térmicas do período ovo-adulto de *A. kuehniella*, conforme procedimento descrito no item 3.1.1. A estimativa do número de gerações durante o ano foi realizada, por meio de uma razão entre o número de dias de um ano (365 dias) e a duração do período ovo-adulto na condição térmica selecionada na presente pesquisa, ou seja, 25°C (item 4.2).

3.2 Efeito da temperatura nas fases imaturas e nos adultos de *A. kuehniella* sobre a reprodução

3.2.1 Efeito da temperatura na qual *A. kuehniella* foi mantida de ovo até a morte do adulto, sobre a reprodução

Mantiveram-se ovos de *A. kuehniella* nas temperaturas de 18, 20, 22, 25, 28, 30 e 32 $\pm 1^\circ\text{C}$, UR: 70 $\pm$ 10% e fotofase: 14h. Após a eclosão, 50 lagartas de cada temperatura foram “inoculadas” em cinco tubos de vidro de oito cm de diâmetro e 13 cm de altura, contendo 10g de dieta artificial utilizada para *A. kuehniella* (97% de farinha de trigo integral + 3% de levedura) e tiras de papelão para pupação do inseto; totalizando 250 lagartas por temperatura.

Após a inoculação, os tubos foram levados para as mesmas câmaras climatizadas, reguladas a 18, 20, 22, 25, 28, 30 e 32 $\pm 1^\circ\text{C}$, onde se deu o desenvolvimento larval e pupal. Após a emergência, 20 casais de cada temperatura foram separados e colocados em tubos de vidro de 8 x 2 cm, e novamente retornaram às temperaturas respectivas (18, 20, 22, 25, 28, 30 e 32 $\pm 1^\circ\text{C}$) para a contagem diária dos ovos e avaliação da mortalidade. O restante dos insetos emergidos, por tratamento, foi armazenado por cinco dias, para posterior pesagem, em uma balança analítica e, a seguir, descartado.

A viabilidade do período embrionário dos ovos de adultos obtidos nas diferentes condições térmicas foi avaliada, separando-se os ovos, referentes ao segundo dia de postura, em “lotes” de 10, mantendo-os em placas de Petri (9,5 cm de diâmetro) contendo papel filtro no seu interior, mantidas a 25 $\pm 1^\circ\text{C}$, UR: 40 $\pm$ 10% e fotofase: 14h; o restante dos ovos foi armazenado

por cinco dias, para pesagem, separando tais ovos em lotes de 50 e pesando-os em uma balança analítica.

3.2.2 Efeito da temperatura, sobre as fases larval e pupal, na postura de *A. kuehniella*

Aproximadamente 100 ovos foram “inoculados” em tubos de vidro de oito cm de diâmetro e 13 cm de altura, contendo 20g de dieta artificial conforme descrito no item 3.2.1, mantidos em câmaras climatizadas reguladas a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 14h para o desenvolvimento embrionário; após a eclosão das lagartas (em torno de cinco dias), os tubos foram transferidos para câmaras climatizadas reguladas nas temperaturas de; 18, 22, 25, 28, 30, 34 e 38°C , com UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 14h, num total de cinco repetições por temperatura.

Após a emergência, 20 casais de cada tratamento foram separados e colocados em tubos de vidro de 8 x 2 cm e, a seguir, transferidos para uma câmara climatizada regulada a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR: $70\pm 10\%$ e fotofase: 14h, para a contagem diária dos ovos e avaliação da mortalidade.

A viabilidade do período embrionário dos ovos de adultos obtidos nas diferentes condições térmicas foi avaliada, separando-se os ovos, referentes ao segundo dia de postura, em “lotes” de 10, mantendo-os em placas de Petri (9,5 cm de diâmetro) contendo papel filtro no seu interior, mantidas a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR: $40\pm 10\%$ e fotofase: 14h; o restante dos ovos foi armazenado por cinco dias, para pesagem, separando tais ovos em lotes de 50 e pesando-os em uma balança analítica.

3.2.3 Efeito da temperatura sobre a fase adulta de *A. kuehniella*

Para avaliar este efeito, 100 lagartas, cujo desenvolvimento embrionário se deu a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR: $50\pm 10\%$ e fotofase: 14h foram “inoculadas” em tubos de vidro de oito cm de diâmetro e 13 cm de altura, contendo 20g de dieta artificial conforme descrito no item 3.2.1.

Após a emergência (em torno de 55 dias), 140 casais foram separados em tubos de vidro de 8 x 2 cm, e mantidos em sete temperaturas diferentes: 18, 20, 22, 25, 28, 30 e 32°C , com UR: $50\pm 10\%$ e fotofase: 14h, sendo 20 casais para cada temperatura. Diariamente realizou-se a contagem dos ovos e avaliação da mortalidade dos adultos.

A viabilidade do período embrionário dos ovos provenientes de adultos mantidos nas diferentes condições térmicas foi avaliada, separando-se os ovos, referentes ao segundo dia de postura, em “lotes” de 10, mantendo-os em placas de Petri (9,5 cm de diâmetro) contendo papel

filtro no seu interior, mantidas a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, UR: $40 \pm 10\%$ e fotofase: 14h; o restante dos ovos foi armazenado por 5 dias, para pesagem, separando tais ovos em lotes de 50 e pesando-os em uma balança analítica.

3.3 Otimização do número de insetos por recipiente para criações massais de *A. kuehniella*

3.3.1 Efeito da densidade de ovos no incremento térmico dos recipientes de criação e na postura de *A. kuehniella*

Foram preparadas bandejas de criação de 40 x 25 cm de base e oito cm de altura, contendo em seu interior 1 Kg de dieta (97% de farinha de trigo integral e 3% de levedura de cerveja), seguindo metodologia descrita por Parra (1997), cada bandeja foi “inoculada” com aproximadamente 3600, 7200, 10800, 14400 e 18000 ovos de *A. kuehniella*, com cinco repetições por densidade, mantendo-se tais bandejas em câmaras climatizadas reguladas a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 14h. Diariamente, realizavam-se medições da temperatura interna dos recipientes, em relação ao ambiente, utilizando-se um termômetro digital Hanna instruments HI 93530, até a emergência dos primeiros adultos.

Coletaram-se os adultos emergidos de cada bandeja até o final das emergências, em intervalos de cinco dias, utilizando-se um aspirador de pó modificado, pesando-se a quantidade total de insetos/bandeja em uma balança, a fim de se estimar a viabilidade de cada bandeja, avaliando-se também o peso médio (individual) de machos e fêmeas de cada dia de coleta, adotando-se uma razão sexual de 0,5 (STEIN, 1985), estimando-se assim a quantidade de insetos emergidos em relação ao número de ovos “inoculados”; também estimou-se o número de ovos produzido por bandeja, multiplicando-se a quantidade estimada de fêmeas emergidas, pelo número médio de ovos colocado por fêmea de cada densidade.

Para avaliação da produção de ovos e longevidade dos adultos, 20 casais, do primeiro dia de emergência, de cada tratamento, foram separados e colocados em tubos de vidro de 8 x 2 cm, para a quantificação diária dos ovos colocados por fêmea e avaliação da mortalidade dos adultos. A viabilidade do período embrionário dos ovos obtidos de adultos mantidos nas diferentes condições de densidade larval foi avaliada, separando-se os ovos, referentes ao segundo dia de postura, em “lotes” de 10, mantendo-os em placas de Petri (9,5 cm de diâmetro) contendo papel filtro no seu interior, mantidos a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, UR: $40 \pm 10\%$ e fotofase: 14h; o restante dos ovos foi

armazenado por 10 dias, para pesagem, separando tais ovos em lotes de 50 e pesando-os em uma balança analítica.

3.3.2 Relação entre incremento térmico x densidade populacional x temperatura de criação na postura de *A. kuehniella*

Para se avaliar o efeito térmico gerado pelo metabolismo de diferentes densidades populacionais de *A. kuehniella* na viabilidade e reprodução dessa traça, inocularam-se 0,1 e 0,5g de ovos, aproximadamente 3.600 e 18.000 ovos de *A. kuehniella*, respectivamente, em bandejas de criação de 40 x 25 cm de base e oito cm de altura, conforme procedimento descrito no item 3.3.1; posteriormente, cada bandeja foi mantida em uma câmara climatizada regulada a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, UR: $40 \pm 10\%$ e fotofase: 14h. Para cada densidade inocularam-se 10 bandejas.

Para a densidade de 18.0500 ovos/bandeja, constatou-se que o pico de incremento térmico ocorreu no 20º dia (item 4.2.1). Assim, no 18º dia, do total de 10 bandejas, cinco foram levadas para uma câmara climatizada regulada a 18°C , esperando-se que com o incremento térmico de 9°C (item 4.2.1) a temperatura da bandeja chegasse a 27°C . As outras cinco bandejas foram mantidas a 25°C , esperando-se que no final do desenvolvimento larval, a temperatura do interior das bandejas chegasse a 34°C (item 4.2.1). O mesmo procedimento foi adotado para as bandejas com 3.600 ovos, porém a mudança de câmara se deu no 26º dia de desenvolvimento larval, levando-se em consideração que o incremento térmico máximo para esta densidade ocorreu no 28º dia (item 4.2.1).

Coletaram-se os adultos emergidos de cada bandeja até a emergência de todos os indivíduos, em intervalos de cinco dias, utilizando-se um aspirador de pó modificado, pesando-se a quantidade total de insetos/bandeja em uma balança, a fim de se estimar a viabilidade de cada bandeja, levando-se em consideração o peso médio (individual) de machos e fêmeas de cada dia de coleta, pesados numa balança analítica, e uma razão sexual de 0,5 (STEIN, 1985), estimando-se assim a quantidade de insetos emergidos em relação ao número de ovos “inoculados”.

Para avaliação da viabilidade, peso e produção de ovos, viabilidade das bandejas e produção de ovos por bandeja de criação, adotou-se o mesmo procedimento do item 2.3.1.

3.4 Produção de dióxido de carbono (CO₂) por bandeja de criação de *A. kuehniella*

O ensaio para avaliar a produção de CO₂ por bandeja de criação de *A. kuehniella* foi desenvolvido no Laboratório de Ecologia e Entomologia Florestal da ESALQ/USP. Para medir a produção de CO₂ por bandeja de criação de *A. kuehniella*, mantiveram-se 10, 20, 30, 40, 60 e 70 bandejas de criação (40 x 25 cm de base e oito cm de altura), preparadas seguindo o método descrito por Parra (1997), contendo a grande maioria das lagartas em 5º ínstar (as bandejas foram “inoculadas” com aproximadamente 10.000 ovos, o equivalente a 0,27g de ovos), em salas climatizadas de 3,60 m²; mantidas a 25 ±3°C e com fotofase de 14h. Foram realizadas as medições nestas lagartas de 5º ínstar, pois testes preliminares mostraram que é neste ínstar que corre o pico de produção de CO₂. Após 24h, realizou-se a medição da concentração de CO₂ no interior das salas de criação, utilizando-se um medidor de CO₂ de ambiente da marca Testo®, modelo 535/CO₂ (Figura 1), sendo a concentração de CO₂ expressa em ppm; uma sala vazia e sem bandejas de criação foi utilizada como padrão. Por meio dos resultados obtidos construiu-se um gráfico de dispersão, relacionando-se a concentração de CO₂ com a quantidade de bandejas por sala, a fim de se estimar a quantidade de CO₂ produzida por uma única bandeja de *A. kuehniella*.

Para expressar a quantidade de CO₂ produzida pelas bandejas em mililitros (mL), foi realizada uma transformação, onde a quantidade de CO₂ produzida na sala foi subtraída da quantidade da sala padrão. A quantidade de CO₂ restante foi transformada em porcentagem, por meio de uma regra de proporcionalidade, levando-se em consideração que 1.000.000 de ppm refere-se a 100% de CO₂; em seguida, a porcentagem de CO₂ da sala foi transformada em mL, numa regra de proporcionalidade, que levou em consideração o volume em litros na sala e a porcentagem de CO₂ no interior de cada sala; para se obter a quantidade de CO₂ produzida por hora, realizou-se novamente uma regra de proporcionalidade, entre a quantidade de CO₂ produzida em 24h e a quantidade produzida em 1h.

Figura 1- Medidor de CO₂ de ambiente marca Testo® modelo 535/CO₂, utilizado no experimento produção de dióxido de carbono (CO₂) por bandeja de criação de *Anagasta kuehniella*: a) processador com “display”; b) sonda de infravermelho

3.5 Efeito do CO₂, na viabilidade do período ovo-adulto e na postura de *A. kuehniella*

O experimento para avaliar o efeito do CO₂ sobre *A. kuehniella* foi desenvolvido no Laboratório de Ecologia e Entomologia Florestal da ESALQ/USP. Neste ensaio, bandejas de criação de *A. kuehniella* de 40 x 25 cm de base e oito cm de altura, contendo em seu interior 1,4Kg de dieta (97% farinha de trigo integral e 3% de levedura) e “inoculadas” com aproximadamente, 10.000 ovos, seguindo método proposto por Parra (1997); foram mantidas em três salas com aproximadamente 3,60 m², permanentemente fechadas; as salas apresentam temperatura regulada a 25 ±3°C e fotofase de 14h. Nestas salas, foram acondicionadas 70, 35 e 10 bandejas de criação, correspondendo a 19,4 bandejas/m²; 9,66 bandejas/m² e 2,77 bandejas/m², respectivamente.

Diariamente, realizava-se a medição de CO₂ nas salas, por meio do medidor mencionado, sendo a concentração expressa em ppm. As medições foram realizadas desde a “inoculação” dos

ovos nas bandejas até a emergência dos primeiros adultos. Após a emergência, cinco bandejas (aleatoriamente escolhidas) de cada sala foram selecionadas para determinação da viabilidade estimada de cada tratamento.

Coletaram-se os adultos emergidos de cada bandeja até a emergência total, em intervalos de cinco dias, utilizando-se um aspirador de pó modificado, pesando-se a quantidade total de insetos/bandeja em uma balança, a fim de se estimar a viabilidade de cada bandeja; também se estimou o número de ovos produzido por bandeja, multiplicando-se a quantidade estimada de fêmeas emergidas, pelo número médio de ovos colocados por fêmea de cada condição.

Avaliou-se o peso médio (individual) de machos e fêmeas de cada dia de coleta e considerou-se uma razão sexual de 0,5 (STEIN, 1985), estimando-se assim a quantidade de insetos emergidos em relação ao número de ovos “inoculados”.

A avaliação do número de ovos colocados e a longevidade dos adultos foi realizada separando-se 20 casais do primeiro dia de emergência de cada tratamento; estes casais foram mantidos em tubos de vidro de 8 x 2 cm para a contagem diária dos ovos e a longevidade foi acompanhada até a morte de todos os adultos.

A viabilidade dos ovos colocados foi avaliada separando-se os ovos, do segundo dia de postura, em “lotes” de 10 e acondicionando-os em placas de Petri (9,5 cm de diâmetro) contendo papel filtro no seu interior; o restante dos ovos foi armazenado por 10 dias, para posterior pesagem, separando-os em lotes de 50 e pesando-os numa balança analítica.

3.6 Análise estatística

Os dados de número de ovos/fêmea, peso individual das fêmeas do primeiro dia de coleta, “viabilidade” das bandejas, peso total de insetos por bandeja, produção estimada de ovos, peso e respectiva viabilidade dos ovos, dos itens 3.1.1; 3.2; 3.3.1 e 3.5, foram analisados quanto a sua normalidade, homocedasticidade e presença de “outliers” por meio da transformação ótima de Box-Cox (com auxílio do software estatístico SAS[®]); posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas, pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade.

Os dados de número de ovos/fêmea, peso individual de fêmeas de primeiro dia de coleta, longevidade de machos e fêmeas, “viabilidade” das bandejas, peso total de insetos por bandeja, produção estimada de ovos, peso e respectiva viabilidade dos ovos, do item 3.3.2, foram

analisados quanto a sua normalidade, homocedasticidade e presença de “outliers” por meio da transformação ótima de Box-Cox (com auxílio do software estatístico SAS[®]); posteriormente, os dados foram submetidos à análise fatorial e as médias comparadas, pelo teste de Tukey ajustado a comparações múltiplas, ao nível de 5 % de probabilidade.

Os dados de viabilidade larval e razão sexual do item 3.1.2 também foram analisados quanto a sua normalidade, homocedasticidade e presença de “outliers” por meio da transformação ótima de Box-Cox (com auxílio do software estatístico SAS[®]); sendo analisados por meio do teste não-paramétrico de Wilcoxon e as médias comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis.

Os dados de longevidade e duração dos períodos ovo-lagarta e lagarta-adulto dos itens 3.1.1; 3.1.2; 3.2; 3.3.1 e 3.5, foram analisados por meio da curva de sobrevivência, onde as médias e erros padrão foram computados com o estimador de Kaplan-Meier da correspondente função de sobrevivência e duração; e as médias comparadas pelo teste de Log-rank ($p < 0,05$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Efeito da temperatura no ciclo evolutivo (ovo-adulto) de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) e determinação das suas exigências térmicas.

4.1.1 Período embrionário

Nas temperaturas extremas (18, 30 e 32°C) houve uma considerável diminuição da viabilidade dos ovos de *A. kuehniella* sendo que as temperaturas, na faixa de 20 a 28°C, proporcionaram uma viabilidade acima de 90% (Tabela 1).

A duração do período embrionário foi inversamente proporcional à temperatura na faixa de 18 a 30°C, sendo que a duração do período variou de 9,87 a 3,94 dias, respectivamente (Tabela 1). Na temperatura de 32°C houve uma estabilização na velocidade de desenvolvimento embrionário, sugerindo que, a partir de 30°C, ocorrem condições adversas para o desenvolvimento de ovos de *A. kuehniella*, embora a duração deste período tenha sido semelhante nas temperaturas de 28, 30 e 32°C (Tabela 1)

A diminuição na velocidade de desenvolvimento embrionário de *A. kuehniella* foi descrita por Voute (1936 apud DAVISON, 1944) que relatou um período embrionário de 3,1 dias na temperatura de 32°C e de 3,7 dias na temperatura de 32°C. A duração do período embrionário na temperatura de 20°C, encontrada no presente trabalho (8,06 dias) é um pouco maior do que aquela relatada por Stein e Parra (1987) para a mesma temperatura (9,46 dias), embora nas demais temperaturas o período embrionário tenha sido semelhante nas duas pesquisas.

A partir dos resultados de duração do período embrionário obtidos, foi calculado o limiar térmico inferior de desenvolvimento, ou temperatura base (T_b) de 10,17°C e a constante térmica (K) de 75,64 GD para ovos de *A. kuehniella* (Figura 2). O resultado obtido a 32°C foi excluído na determinação das exigências térmicas, uma vez que nesta temperatura ocorreu a referida estabilização na velocidade de desenvolvimento. Estes resultados são próximos aos descritos por Davison (1944), Bell (1975), Jacob e Cox (1977) e Stein e Parra (1987) que referiram valores de T_b entre 10,05 e 13,3°C e para a constante térmica (K) entre 64,4 e 80,06 graus dia.

Tabela 1 - Duração em dias e viabilidade (%) do período embrionário de *A. kuehniella* em diferentes temperaturas. UR: 70 $\pm$ 10% e fotofase: 14h

Temperatura (°C)	Duração (dias) ¹ $\pm$ EP ³	Viabilidade (%) ² $\pm$ EP ³
18	9,87 $\pm$ 0,12 a	85 $\pm$ 3,4 ab
20	8,06 $\pm$ 0,04 b	92 $\pm$ 2,9 a
22	6,08 $\pm$ 0,03 c	91 $\pm$ 3,8 a
25	5,06 $\pm$ 0,02 d	96 $\pm$ 1,6 a
28	4,12 $\pm$ 0,04 e	91 $\pm$ 2,8 a
30	3,94 $\pm$ 0,03 e	83 $\pm$ 4,2 ab
32	4,10 $\pm$ 0,04 e	72 $\pm$ 4,7 b

¹Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Log-rank. ²Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. ³Erro padrão da média.

A viabilidade tendeu a ser menor nos extremos da faixa estudada, como mencionado anteriormente, sendo que entre 20 e 28°C ocorreu uma menor mortalidade do embrião de *A. kuehniella*; também deve-se considerar que a duração do período embrionário acima de 28°C foi estatisticamente semelhante (Tabela 1). Sendo assim, pode ser considerada a faixa entre 20 e 28°C como a melhor faixa térmica para o desenvolvimento embrionário de *A. kuehniella*.

Figura 2 - Duração (dias) e velocidade de desenvolvimento de ovos de *A. kuehniella* em diferentes temperaturas. UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 14h

4.1.2 Período lagarta-adulto

A duração do período lagarta-adulto foi também inversamente proporcional à temperatura na faixa de 18 a 30°C (Tabela 2). Assim como para o desenvolvimento embrionário, a temperatura, a partir de 30°C, se mostrou inadequada ao desenvolvimento de *A. kuehniella*, pois ocorreu um alongamento do período lagarta-adulto a 32°C (Tabela 2). As durações do período lagarta-adulto encontrado no presente trabalho, nas temperaturas de 18, 25 e 32°C, respectivamente, 89,35; 54,04 e 63,43 dias, diferiram dos resultados relatados por Stein e Parra (1987), nas mesmas temperaturas, pois os autores relataram períodos lagarta-adulto de 98,22; 45,49 e 41,81 dias, respectivamente.

A partir dos resultados obtidos, calculou-se a temperatura base (T_b) do período lagarta-adulto que foi de 9,11°C e a constante térmica (K) de 833,33 GD para *A. kuehniella* (Figura 3). Foi excluído o resultado obtido em 32°C, para determinação das exigências térmicas, pelo motivo anteriormente exposto.

Tabela 2 - Duração (dias); viabilidade (%) e razão sexual do período lagarta-adulto de *A. kuehniella* em diferentes temperaturas. UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 14h

Temperatura	Duração ¹	Viabilidade ²	rs ^{3,4}
18	89,35 a	79,00 a	0,53
20	76,84 b	80,00 a	0,44
22	63,71 c	86,00 a	0,53
25	54,04 d	74,00 a	0,53
28	46,30 e	84,00 a	0,62
30	37,76 f	71,00 a	0,46
32	63,43 c	37,00 b	0,43

¹Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de log-rank ($p < 0,05$). ²Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). ³Dados sem diferença estatística. ⁴rs=n° fêmeas/ n° de machos + n° de fêmeas.

Figura 3 - Duração (dias) e velocidade de desenvolvimento do período lagarta-adulto de *A. kuehniella* em diferentes temperaturas. UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 14h

A viabilidade larval foi maior na faixa de 18 a 30°C , havendo um decréscimo apenas a 32°C , ficando evidente a influência negativa dessa temperatura elevada sobre o desenvolvimento do período lagarta-adulto de *A. kuehniella* (Tabela 2). A 32°C também ocorreu uma diminuição na velocidade de desenvolvimento dos períodos larval e pupal, fato também descrito por Stein e

Parra (1987). A razão sexual não foi afetada pela temperatura na faixa estudada, sendo próxima de 0,5 em todas as condições (Tabela 2).

Com base nos dados obtidos fica clara a influência negativa de altas temperaturas sobre as fases larval e pupal de *A. kuehniella*, sendo considerada como a melhor faixa térmica para o desenvolvimento do referido período, temperaturas entre 18 e 30°C.

4.1.3 Exigências térmicas do período ovo-adulto e estimativa do número anual de gerações

A partir dos resultados obtidos nos itens 4.1.1 e 4.1.2, calcularam-se a temperatura base (T_b) do período ovo-adulto que foi de 9,22°C e a constante térmica (K) de 909,1 GD para *A. kuehniella* (Figura 4). Foram excluídos os resultados obtidos a 32°C, para determinação das exigências térmicas, pelos motivos anteriormente expostos. Estes valores assemelham-se aos referidos por Stein e Parra (1987) que relataram T_b de 8,23°C e K de 961,12GD para a espécie, pois os resultados obtidos para o período ovo-adulto e apresentados pelos autores nos dois trabalhos, são muito próximos, ou seja, 57,61 dias no presente trabalho e de 57,31 dias por Stein e Parra (1987).

Com base na duração do período ovo-adulto de 57,61 dias, na temperatura de 25°C, por ser a mais adequada ao desenvolvimento de imaturos de *A. kuehniella* (itens 3.1.1 e 3.1.2), é possível estimar que ocorram 6,6 gerações da traça em laboratório por ano.

Figura 4 - Duração (dias) e velocidade de desenvolvimento do período ovo-adulto de *A. kuehniella* em diferentes temperaturas. UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 14h

4.2 Efeito da temperatura nas fases imaturas e nos adultos de *A. kuehniella* sobre a reprodução

4.2.1 Efeito da temperatura na qual *A. kuehniella* foi mantida de ovo até a morte do adulto, sobre a reprodução

A temperatura influenciou drasticamente a reprodução de *A. kuehniella*. Assim, fêmeas emergidas e mantidas a 32°C ovipositaram 94% a menos do que fêmeas emergidas e mantidas a 22°C (Tabela 3). A temperatura influenciou de maneira negativa a oviposição de *A. kuehniella* a partir da temperatura de 28°C , sendo que o número de ovos colocados nesta temperatura foi 20% menor do que aquele obtido a 22°C , valores que diferiram estatisticamente entre si (Tabela 3). A maior quantidade de ovos foi obtida de fêmeas emergidas e mantidas na faixa de 18 a 25°C (Tabela 3).

O peso das fêmeas mantidas nas temperaturas de 18 e 20°C foi maior do que o de fêmeas mantidas a 28, 30 e 32°C ; sendo que esta variável decresceu com o aumento da temperatura, havendo uma correlação direta entre peso de fêmeas e postura, especialmente com pesos de

fêmeas inferiores a 23 mg (Tabela 3). Possivelmente fêmeas oriundas de imaturas mantidos em temperaturas mais baixas possuam maior peso devido ao maior tempo de alimentação.

A longevidade de machos de *A. kuehniella* emergidos e mantidos em temperaturas baixas (18, 20 22°C) é maior do que machos emergidos e mantidos nas temperaturas de mais altas, devido ao menor metabolismo naquelas condições térmicas (Tabela 3). A tendência foi semelhante para machos e fêmeas, ou seja, ambos os sexos viveram mais nas temperaturas mais baixas. Entretanto, os machos foram mais longevos (tabela 3), pois as fêmeas morrem quando param de colocar ovos.

Tabela 3 - Peso de fêmeas, número de ovos por fêmea e longevidade de machos e fêmeas de *A. kuehniella* mantidos em diferentes condições de temperatura durante o período ovo-morte do adulto. UR: 50 ±10%, fotofase: 14h

Temperatura (°C)	Peso de fêmeas (mg) ¹ ±EP ³	nº de ovos/fêmea ¹ ±EP ³	longevidade	
			♂ ² ±EP ³	♀ ² ±EP ³
18	25,30 ± 0,48 a	418 ± 16,1 ab	20,20 ± 0,59 a	11,50 ± 0,22 a
20	25,31 ± 0,60 a	383 ± 9,1 ab	18,20 ± 0,96 a	10,55 ± 0,49 a
22	23,15 ± 0,44 ab	480 ± 13,9 a	19,05 ± 0,70 a	9,80 ± 0,26 b
25	23,30 ± 0,61 ab	435 ± 20,4 ab	13,80 ± 0,60 b	8,65 ± 0,30 b
28	22,86 ± 0,55 b	370 ± 26,3 b	11,10 ± 0,32 c	7,85 ± 0,45 b
30	21,71 ± 0,46 b	231 ± 22,3 b	10,75 ± 0,26 c	8,05 ± 0,30 b
32	17,80 ± 0,86 c	27 ± 6,64 c	8,85 ± 0,28 d	8,35 ± 0,31 b

¹Médias seguidas pela mesma letra não diferem, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. ² Médias seguidas pelas mesma letra não diferem pelo teste de Log-rank; ³erro padrão da média.

A temperatura afetou de maneira drástica a viabilidade dos ovos provenientes de fêmeas emergidas e mantidas a 30 e 32°C, sendo que não se observou nenhuma eclosão de ovos provenientes de fêmeas mantidas a 32°C; a 30°C apenas 11% dos ovos foram viáveis; a viabilidade dos ovos provenientes das fêmeas emergidas e mantidas nas demais temperaturas não diferiu sendo sempre superior a 90% (Tabela 4). O peso dos ovos colocados por fêmeas emergidas e mantidas a 22°C foi maior do que os ovos colocados por fêmeas emergidas e mantidas a 18 e 20°C e semelhante ao peso de ovos colocados por fêmeas emergidas e mantidas a 25 e 28°C; ovos colocados por fêmeas mantidas a 30°C foram mais leves do que os demais, o que sugere que temperaturas extremas interferem na formação dos ovos; não foi possível pesar os ovos provenientes de fêmeas emergidas e mantidas a 32°C, devido ao baixo número de ovos obtido (Tabela 4).

Segundo Daumal (1987 apud DAUMAL; BOINEL,1994), a exposição de larvas de 5º ínstar de *A. kuehniella* à temperatura de 10°C, gerou adultos, machos e fêmeas, mais pesados e fêmeas com maior fertilidade. Segundo a referida autora, o período de emergência, nas citadas condições, também foi encurtado.

Tabela 4 - Viabilidade do período embrionário e peso dos ovos colocados por fêmeas de *A. kuehniella* provenientes das diferentes condições térmicas e posteriormente mantidos a 25±1 °C, UR: 50%±10 e fotofase: 14h

Temperatura (°C)	Viabilidade dos ovos ¹ ±EP ²				Peso dos ovos (µg) ¹ ±EP ²	
18	95	±	2,36	a	23,8 ± 1,1	a
20	92	±	3,53	a	24,1 ± 0,6	a
22	97	±	2,16	a	27,4 ± 0,5	b
25	93	±	3,02	a	26,5 ± 0,8	ab
28	96	±	3,12	a	25,8 ± 0,6	ab
30	11	±	6,13	b	16,0 ± 1,1	c
32	0	±	0,00	b	-	

¹Médias seguidas pela mesma letra não diferem, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. ² erro padrão da média.

Deve-se relatar que a menor postura registrada em fêmeas provenientes de altas temperaturas (30 e 32°C) e a baixa viabilidade de seus ovos, podem estar relacionadas com deformações apresentadas pelos insetos emergidos destas condições térmicas. Os machos apresentaram deformações principalmente na estrutura de acoplamento (Figura 5), o que pode inviabilizar a cópula, sendo que, fêmeas não fertilizadas colocaram menos ovos; no caso de serem colocados os ovos foram inviáveis, e as fêmeas apresentaram deformações, principalmente nas asas (Figura 5).

Figura 5 - Deformações observadas em *A. kuehniella* provenientes de imaturos mantidos em temperaturas acima de 28°C: a) Casal morto devido ao acoplamento mal sucedido; b) Fêmea com asa deformada; c) estrutura de acoplamento do órgão reprodutor masculino deformado, apresentando-se maior e aparentemente “quitinizado”; d) estrutura de acoplamento do órgão reprodutor masculino não deformado, apresentando-se em tamanho normal recoberto por escamas

Por meio dos resultados obtidos neste ensaio sugere-se que a temperatura de criação de *A. kuehniella* deve ser mantida abaixo de 28°C, pois nesta temperatura ocorre redução do número de ovos colocados por fêmea e acima dela (30 e 32°C) ocorre inviabilização dos ovos, redução drástica na postura e deformação de adultos. Além disto, os ovos colocados por fêmeas mantidas a 30°C são mais leves do que ovos colocados por fêmeas mantidas nas demais temperaturas. A postura foi estatisticamente maior a 22°C; porém deve-se avaliar a relação entre duração do período ovo-adulto e postura, visando-se a uma criação massal; assim, devem ser sugeridas as temperaturas próximas a 25°C como as mais adequadas, para o desenvolvimento de *A. kuehniella*, levando-se em consideração que a duração do período ovo-adulto se alonga em temperaturas mais baixas.

4.2.2 Efeito da temperatura, sobre as fases larval e pupal, na postura de *A. kuehniella*

Nas temperaturas de 34 e 38°C não ocorreu emergência de adultos. Houve uma redução, estatisticamente significativa, na postura das fêmeas provenientes de lagartas e pupas criadas a 30°C, em relação àquelas provenientes de lagartas e pupas criadas a 18 e 22°C (Tabela 5); é conveniente lembrar que a fase larval a 30°C tem duração de, aproximadamente, 37 dias, enquanto que a 18°C a duração é de 89 dias (Tabela 2). O número de ovos/fêmea obtido a 25°C foi semelhante àqueles registrados nas temperaturas de 22 e 28°C (Tabela 5). A pesagem das fêmeas não foi efetuada, pois este dado já é exposto no item 4.2.1.

A longevidade das fêmeas provenientes das diferentes condições térmicas durante as fases larval e pupal foi estatisticamente semelhante; entretanto, a longevidade de machos provenientes de imaturos mantidos a 25 e 28°C foi diferente da de machos cujos imaturos foram mantidos a 30°C (Tabela 5). De forma análoga, ao observado em 3.2.1, os machos viveram mais do que as fêmeas, independente da temperatura; entretanto, não houve influência da temperatura na longevidade, diferentemente de 3.2.1, em que nas temperaturas mais baixas, devido à menor atividade metabólica, os adultos viveram menos.

Tabela 5 - Número de ovos por fêmea e longevidade de machos e fêmeas de *A. kuehniella* criados em diferentes condições de temperatura durante os estágios larval e pupal e transferidos para a temperatura de 25°C após a emergência. UR: 50± 10% e fotofase: 14h

Temperatura (°C)	nº ovos/fêmea ¹ ± EP ⁴				Longevidade (dias)			
					♂ ² ± EP ⁴		♀ ³ ± EP ⁴	
18	488,8	±	24,6	a	11,7	± 0,4	ab	9,45 ± 0,4
22	471,1	±	16,7	a b	12,6	± 0,3	ab	8,6 ± 0,2
25	444,0	±	15,9	a b c	13,6	± 0,4	a	8,9 ± 0,5
28	399,7	±	16,8	b c	13,0	± 0,3	a	9,5 ± 0,4
30	393,2	±	19,9	c	11,3	± 0,4	b	10,7 ± 0,5
34	-				-			-
38	-				-			-

¹Médias seguidas pela mesma letra não diferem, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. ²Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Log-rank (p>0,05). ³Não há diferença estatística, ⁴ erro padrão da média.

Ovos provenientes de fêmeas criadas a 30°C apresentaram viabilidade menor do que ovos provenientes de fêmeas cujo desenvolvimento larval ocorreu na faixa entre 18-28 °C (Tabela 6). Deve-se levar em consideração que insetos emergidos na temperatura de 30°C apresentavam as mesmas deformações relatadas no item 4.2.1 (Figura 5), o que pode explicar a baixa viabilidade dos ovos e fertilidade das fêmeas. A duração do período embrionário foi igual nos ovos provenientes de fêmeas mantidas nas diferentes condições térmicas durante as fases imaturas (Tabela 6).

Tabela 6 - Duração e viabilidade do período embrionário de ovos colocados por fêmeas de *A. kuehniella* provenientes das diferentes condições térmicas, posteriormente mantidos a $25\pm1^{\circ}\text{C}$, UR: $50\pm10\%$ e fotofase: 14h

Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Duração período embrionário (dias) ¹ $\pm\text{EP}^3$	Viabilidade dos ovos (%) ² $\pm\text{EP}^3$
18	5,58 $\pm$ 0,4	91 $\pm$ 4,7 a
22	5,05 $\pm$ 0,2	93 $\pm$ 2,1 a
25	5,01 $\pm$ 0,0	94 $\pm$ 2,7 a
28	5,01 $\pm$ 0,0	99 $\pm$ 1,0 a
30	5,00 $\pm$ 0,0	58 $\pm$ 8,4 b
34	-	-
38	-	-

¹ Dados sem diferença estatística. ² Médias seguidas pela mesma letra não diferem, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. ³ Erro padrão da média.

Nas condições em que este ensaio foi realizado sugere-se que a temperatura de criação de imaturos deve ser mantida abaixo de 30°C , pois nesta temperatura ocorreu redução da viabilidade de ovos e acima dela (34 e 38°C) não ocorreu o desenvolvimento do inseto. A postura foi maior entre 18 e 28°C ; porém, deve-se avaliar a relação entre duração do período larval e postura, visando-se a uma criação massal; assim, como já comentado no item 4.2.1, devem ser sugeridas as temperaturas próximas a 25°C como as mais adequadas para desenvolvimento das fases larval e pupal de *A. kuehniella*, levando-se em consideração que a duração do período larval se alonga em temperaturas mais baixas.

4.2.3 Efeito da temperatura sobre a fase adulta de *A. kuehniella*

A temperatura não afetou a postura de adultos de *A. kuehniella* provenientes de imaturos mantidos a 25°C , pois em todas as temperaturas as fêmeas colocaram mais de 340 ovos (Tabela 7). Possivelmente a não influência da temperatura, sobre adultos, na postura de *A. kuehniella*, se deve ao fato do inseto ser pró-ovigênico, ou seja, as fêmeas já emergem com os ovários maduros, apenas aguardando a inseminação do macho, para iniciar as posturas. Assim como o observado nos itens 3.2.1 e 3.2.2, os machos viveram mais do que as fêmeas, independente da temperatura; entretanto, insetos mantidos em temperaturas mais baixas viveram mais que insetos mantidos em

temperaturas mais altas, devido ao menor metabolismo das mariposas, de forma análoga ao observado no item 3.2.1.

Tabela 7 - Número de ovos por fêmea e longevidade de machos e fêmeas de *A. kuehniella* mantidos durante as fases imaturas a 25°C e transferidos para diferentes condições de temperatura na fase adulta. UR: 50± 10% e fotofase: 14h

Temperatura °C	Número de ovo/fêmea ¹ ±EP ³		Longevidade (dias)	
			♂ ² ± EP ³	♀ ² ± EP ³
18	356,2	± 25,42	19,35 ± 0,90 a	14,00 ± 0,49 a
20	354,8	± 23,10	21,50 ± 0,65 a	12,40 ± 0,65 a
22	395,1	± 23,35	18,20 ± 1,06 a	10,45 ± 0,38 b
25	412,4	± 15,89	14,25 ± 0,55 b	9,55 ± 0,47 b
28	374,3	± 12,14	10,05 ± 0,44 c	8,45 ± 0,46 b
30	343,0	± 25,96	9,40 ± 0,40 c	7,95 ± 0,32 b
32	356,4	± 22,57	8,35 ± 0,35 c	7,15 ± 0,37 b

¹ Dados sem diferença estatística. ² Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Log-rank (p>0,05). ³ Erro padrão da média.

As viabilidades dos ovos colocados por fêmeas mantidas nas diferentes condições térmicas, provenientes de imaturos mantidos a 25°C, foram semelhantes, com viabilidade superior a 90% em todas as temperaturas (Tabela 8). Ao contrário do observado nos itens 3.2.1 e 3.2.2, os adultos não apresentaram deformações (Figura 5), já que o desenvolvimento dos imaturos se deu a 25°C.

O peso dos ovos também não teve diferença entre tratamentos; como já descrito anteriormente *A. kuehniella* é um inseto pró-ovigênico; desta forma, as fêmeas já emergem com os ovários maduros. Sendo assim, a semelhança no peso dos ovos é explicada por esta característica reprodutiva do inseto (pró-ovigenia), uma vez que os ovos se desenvolveram, durante a fase imatura, na mesma condição térmica (Tabela 8).

Tabela 8 - Viabilidade do período embrionário e peso dos ovos colocados por fêmeas de *A. kuehniella* mantidas durante as fases imaturas a 25°C e transferidas para diferentes condições de temperatura durante o estágio adulto. UR: 50± 10% e fotofase: 14h

Temperatura °C	Viabilidade (%) ¹ ±EP ³	Peso dos ovos (µg) ¹ ±EP ³
18	93 ± 3,35	21,9 ±0,6
20	95 ± 2,24	21,6 ±0,7
22	94 ± 2,67	21,8 ±0,6
25	96 ± 2,21	20,5 ±0,6
28	91 ± 3,48	21,2 ±0,5
30	96 ± 1,63	20,0 ±0,5
32	97 ± 2,13	19,8 ±0,6

¹ Dados sem diferença estatística. ² Erro padrão da média.

Geister et al. (2008) trabalhando com *Bicyclus anynana* (Butler, 1879) relataram que fêmeas criadas na mesma condição térmica durante a fase imatura e posteriormente transferidas para 20 e 27°C, apresentam plasticidade na reprodução; os autores registraram que fêmeas mantidas a 20°C colocaram poucos ovos, porém estes ovos eram maiores do que os ovos depositados por fêmeas mantidas a 27°C. Os autores tentaram relacionar esta diferença com níveis de hormônio juvenil, porém não obtiveram resultados consistentes.

Quando se criou *A. kuehniella* na temperatura de 25°C, transferindo depois os adultos para temperaturas na faixa de 18 a 32°C, não se observaram alterações em aspectos reprodutivos do inseto. Desta forma, sugere-se que a condição térmica na qual o adulto é exposto não interfere na postura de *A. kuehniella*; de forma análoga, ovos colocados por fêmeas mantidas nas diferentes condições térmicas, apresentaram a mesma viabilidade e peso (Tabela 8); apenas a longevidade dos insetos foi influenciada, sendo maior nas menores temperaturas como já referido em 4.2.1 (Tabela 7).

4.3 Otimização do número de insetos por recipiente para criações massais de *A. kuehniella*

4.3.1 Efeito da densidade de ovos no incremento térmico dos recipientes de criação e na postura de *A. kuehniella*

A temperatura no interior das bandejas aumentou entre 7,5 e 9°C, nos tratamentos com menor e maior densidade de ovos, respectivamente (Figura 6 e Tabela 9) correspondente ao 4º ínstar para ambas as densidades. Este aumento da temperatura no interior das bandejas foi relatado na literatura por Whishart (1942 apud DAUMAL; BOINEL, 1994) e Cerutti et al. (1992). Nas menores densidades (3.600 e 7.200 ovos/bandeja), no primeiro dia de coleta, emergiram fêmeas mais pesadas do que nas demais densidades (Tabela 9, Figura 7). Como no tratamento com maior densidade (18.000 ovos/bandeja) houve uma redução de 32% da postura em relação ao tratamento com 3.600 ovos/bandeja (Tabela 9), pode-se deduzir que, houve uma correlação entre peso de fêmeas e, capacidade de postura (Tabela 9, Figura 7), resultados estes semelhantes aos descritos por Cerutti et al. (1992) e por Parra et al. (1989). A longevidade de machos e fêmeas provenientes das diferentes densidades foi semelhante (Tabela 9).

Figura 6 - Incremento térmico (°C) diário do interior das bandejas de criação, em relação ao ambiente, “inoculadas” com as diferentes densidades de ovos, até a emergência dos primeiros adultos de *A. kuehniella*. Temperatura: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 14h

Figura 7 - Diferença do tamanho de fêmeas de *A. kuehniella* emergidas de bandejas com densidade de 3.600 ovos/bandeja (esquerda) e fêmea emergida da densidade de 18.000 ovos/bandeja (direita)

Tabela 9 - Média do peso, número de ovos por fêmea, longevidade de adultos de *A. kuehniella*, emergidos de bandejas de criação “inoculadas” com diferentes densidades de ovos e incremento térmico máximo em relação ao ambiente para cada densidade de ovos. Temperatura: 25 ±2°C, UR: 70 ±10% e fotofase: 14h

Densidade ovos/bandeja ¹	Peso fêmeas (mg) ^{2,3} ±EP ⁵		n° ovos/fêmea ² ±EP ⁵		Longevidade (dias) ⁴		Incremento térmico máximo(°C) em relação ao ambiente ¹ ±EP ⁴
					♂ ±EP ⁵	♀ ±EP ⁵	
3.600	20,41 ± 0,36	a	350,15 ± 18,80	a	7,95 ± 0,52	7,50 ± 0,41	7,45 ± 0,28 a
7.200	19,74 ± 0,35	a	268,70 ± 29,66	a b	7,85 ± 0,41	7,05 ± 0,41	8,13 ± 0,38 ab
10.800	16,77 ± 0,42	b	226,10 ± 24,63	b	6,35 ± 0,25	6,25 ± 0,25	8,55 ± 0,14 b
14.400	15,79 ± 0,51	b	213,50 ± 27,62	b	7,20 ± 0,41	7,05 ± 0,41	8,98 ± 0,26 b
18.000	17,13 ± 0,43	b	239,65 ± 17,23	b	7,05 ± 0,35	6,45 ± 0,35	9,00 ± 0,16 b

¹Bandeja de 40 x 25 de base e 8 cm de altura, contendo 1Kg de dieta (97% farinha de trigo integral e 3% de levedura). ²Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. ³Peso de fêmeas coletadas no primeiro dia de emergência. ⁴Diferença não significativa. ⁵Erro padrão da média.

O peso total de insetos, emergidos por bandeja, foi semelhante nas densidades de 3.600, 14.400 e 18.000 ovos/bandeja, sendo que o maior número de insetos foi encontrado nas densidades de 7.200 e 10.800 ovos/bandeja (Tabela 10). A quantidade estimada de indivíduos produzidos é semelhante na maior e menor densidades (3.600 e 18.000 ovos/bandeja) com um total de 3.363 e 5.044 mariposas. Nas densidades de 7.200, 10.800 e 14.400 ovos/bandeja emergiu um maior número de insetos (Tabela 10).

A viabilidade estimada da bandeja decresce com o aumento da densidade de ovos/bandeja, sendo que nas duas menores densidades (3.600 e 7.200 ovos/bandeja) a viabilidade estimada foi maior que 75%. Na densidade de 10.800 ovos/bandeja emergem mais mariposas, porém, a viabilidade deste tratamento foi de 63,01% (Tabela 10). Segundo Parra et al. (1989) bandejas contendo 1 Kg de dieta produzem uma mesma quantidade de adultos, quando “inoculadas” com 14.400, 21.600, 28.800 e 36.000 ovos, sendo que a viabilidade diminui com o aumento da densidade larval no interior das bandejas, Cerutti et al. (1992) também relataram uma diminuição no número de insetos emergidos em altas densidades.

A estimativa do número de ovos produzidos por bandeja, levando-se em consideração o número de ovos colocado por fêmea das diferentes densidades, mostrou que na menor e maior densidade, 3.600 e 18.000 ovos/bandeja, respectivamente, a estimativa do número de ovos produzidos por bandeja é menor que nas densidades de 7.200 e 10.800 ovos/bandejas (Tabela 10). Estima-se que as bandejas “inoculadas” com 7.200 ovos produzam cerca de 100.000 ovos a mais que as bandejas “inoculadas” com 18.000 ovos, sendo estes 100.000 ovos equivalentes a 2,7 g de ovos por bandeja, considerando-se que 1g de ovos tem 36.000 ovos de *A. kuehniella*.

No trabalho realizado por Cerutti et al. (1992), a maior produção de ovos por bandeja foi obtida na densidade de 6.500 ovos/Kg de dieta, sendo que os autores estimaram a produção de 33,04 g de ovos (aproximadamente 1.189.440 ovos) por bandeja, constatando-se que a temperatura do interior da bandeja não ultrapassou 25°C, sendo que a sala de criação estava regulada a 15°C; no presente trabalho a densidade de 7.200 ovos/bandeja produziu cerca de 21,05 g de ovos (758.060 ovos); entretanto a temperatura no interior da bandeja ultrapassou 32°C no 4º ínstar (Figura 6) .

Tabela 10 - Média do peso total de insetos, estimativa média do número de insetos, viabilidade estimada do período ovo-adulto e número de ovos produzidos por bandeja, provenientes de *A. kuehniella* emergidas de bandejas de criação “inoculadas” com diferentes densidades de ovos. Temperatura $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 14h

Densidade ovos/bandeja ¹	Peso total de insetos produzidos/bandeja (g) ² ±EP ³			Total estimado de insetos ² ±EP ³			Viabilidade estimada ² ±EP ³			Número de ovos estimado/bandeja ²		
3.600	63,4	±	6,49	b	3363	±	144	a	90,70	±	2,1	a
7.200	91,2	±	4,83	a	5642	±	174	b	78,37	±	2,5	a
10.800	89,73	±	1,52	a	6805	±	396	b	63,01	±	3,8	a
14.400	76,46	±	4,05	ab	6024	±	488	b	41,83	±	3,5	c
18.000	64,06	±	4,10	b	5044	±	577	ab	28,02	±	3,3	c

¹ Bandeja de 40 x 25 de base e 8 cm de altura, contendo 1Kg de dieta (97% farinha de trigo integral e 3% de levedura). ² Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. ³ Erro padrão da média.

A viabilidade dos ovos colocados pelas fêmeas das diferentes densidades não diferiu sendo maior de que 90% em todas as densidades (Tabela 11). Fêmeas maiores sempre colocaram ovos mais pesados, concordando com os resultados de Cerutti et al. (1992). A duração do período embrionário foi semelhante em ovos provenientes de todas as densidades (Tabela 11).

Tabela 11 - Viabilidade, peso e duração do período embrionário dos ovos provenientes de fêmeas de *A. kuehniella* emergidas das bandejas com diferentes densidades de ovos. Temp. $25 \pm 1^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 14h

Densidade ovos/bandeja ¹	Viabilidade dos ovos(%) ² ±EP ⁴	Peso dos ovos (µg) ³ ±EP ⁴	Duração do período embrionário (dias) ² ±EP ⁴
3.600	92 ± 2,91	27,6 ± 0,60 a	5 ± 0,00
7.200	95 ± 2,69	27,7 ± 0,56 a	5 ± 0,00
10.800	93 ± 2,13	25,6 ± 0,65 ab	5,01 ± 0,01
14.400	92 ± 2,49	24,6 ± 0,60 a	5,03 ± 0,02
18.000	91 ± 2,76	24,6 ± 0,67 a	5,03 ± 0,03

¹ Bandeja de 40 x 25 de base e 8 cm de altura, contendo 1Kg de dieta (97% farinha de trigo integral e 3% de levedura). ²Dados sem diferença estatística. ³ Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. ⁴Erro padrão da média.

Com base nestes resultados fica claro que diferentes densidades levam a diferentes condições térmicas na criação massal de *A. kuehniella*, dados estes que devem ser considerados para otimização da produção de ovos (item 4.2); nas diferentes densidades iniciais de ovos também emergem fêmeas com diferentes pesos e capacidade de postura, o que está relacionado com a competição por alimento, que é maior nas maiores densidades (Figura 7), porém, a influência, na reprodução, da condição térmica a qual *A. kuehniella* foi exposta, não está clara. A capacidade de produção de ovos por bandeja é semelhante nas densidades de 3.600 e 18.000 ovos/bandeja, uma vez que fêmeas emergidas da densidade de 3.600 ovos/bandeja, mesmo que em menor número, ovipositam 32% a mais de ovos que fêmeas emergidas na densidade de 18.000 ovos/bandeja.

Cerutti et al. (1992) relataram que a maior produção de ovos por bandeja é obtida “inoculando-se” 6.500 ovos por kg de dieta. Parra et al. (1989) recomendaram a utilização de 14.400 ovos por Kg de dieta, pois nesta densidade os autores obtiveram a maior produção de ovos e de adultos emergidos, porém os autores não avaliaram a quantidade estimada de ovos produzidos por Kg de dieta, relacionando o número de fêmeas e a quantidade de ovos colocados. No presente trabalho a maior produção estimada de ovos foi alcançada nas densidades de 7.200 e 10.800 ovos/bandeja (cada bandeja contendo 1 Kg de dieta) além do que os ovos foram mais

pesados em relação às demais densidades estudadas. Porém deve-se levar em consideração que a viabilidade é maior em bandejas “inoculadas” com 7.200 ovos (Tabela 10), havendo uma economia de 0,1 g de ovos por bandeja, o que em grandes criações pode ser significativo. Sendo assim, nas condições deste trabalho, 7.200 ovos/bandeja (bandejas com 1 Kg de dieta) foi considerada a melhor densidade para criações massais de *A. kuehniella*.

4.3.2 Relação entre incremento térmico x densidade populacional x temperatura de criação na postura de *A. kuehniella*

Em bandejas “inoculadas” com baixa densidade inicial de ovos (3.600ovos) e mantidas a 25°C, emergiram fêmeas que colocaram mais ovos do que fêmeas emergidas de bandejas “inoculadas” com 18.000 e mantidas a 25°C (Tabela 12). Por outro lado, quando as bandejas com 18.000 ovos são transferidas, antes do incremento térmico máximo, para câmaras climatizadas reguladas a 18°C, emergem fêmeas com capacidade de postura semelhante à das fêmeas emergidas de bandejas “inoculadas” com 3.600 ovos e mantidas a 25°C; entretanto, o maior número de ovos é observado em fêmeas emergidas de bandejas “inoculadas” com 3.600 ovos e transferidas para 18°C (Tabela 12).

Este aumento na produção de ovos das fêmeas provenientes de bandejas levadas a 18°C se deve à diminuição da temperatura interna das bandejas no período de maior incremento térmico, proveniente do metabolismo larval no 4º ínstar (Tabela 12). Este resultado indica que o incremento térmico que ocorre no interior das bandejas de criação interfere significativamente na produção de ovos de *A. kuehniella*.

Fêmeas provenientes de bandejas “inoculadas” com 3.600 ovos/bandeja apresentaram pesos semelhantes, nas duas condições térmicas, sendo que fêmeas provenientes de bandejas “inoculadas” com 18.000 ovos e transferidas para 18°C também apresentaram peso semelhantes àqueles “inoculadas” com 3.600 ovos/bandejas. Fêmeas provenientes de bandejas “inoculadas” com 18.000 ovos/bandeja e mantidas a 25°C apresentaram menor peso do que as fêmeas criadas nas demais densidades de ovos.

Tabela 12 - Média do peso de adultos (machos e fêmeas) e número de ovos/fêmea de *A. kuehniella* emergidas de bandejas de criação “inoculadas” com diferentes densidades de ovos e mantidas sob diferentes condições de temperatura e temperatura máxima registrada dentro das bandejas de criação. UR: 50 $\pm$ 10% e fotofase: 14h

Densidade ovos/bandeja ¹	Temperatura (°C)	Peso de fêmeas (mg) ^{2,3} $\pm$ EP ⁴	n° ovos/ fêmea ³ $\pm$ EP ⁴	Temperatura máxima no interior da bandeja
3.600	18°C*	21,90 $\pm$ 0,97 a	424,80 $\pm$ 17,08 a	23,5
	25°C	20,96 $\pm$ 0,99 a	302,15 $\pm$ 16,82 b	30,9
18.000	18°C*	19,52 $\pm$ 0,61 a	272,42 $\pm$ 16,87 b	27
	25°C	14,37 $\pm$ 0,88 b	210,42 $\pm$ 15,74 c	34,5

¹ Bandeja de 40 x 25 de base e 8 cm de altura, contendo 1Kg de dieta (97% farinha de trigo integral e 3% de levedura). ²Fêmeas provenientes da primeira coleta. ³Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste Tukey ajustado para comparações múltiplas, ao nível de 5% de probabilidade. ⁴Erro padrão da média. *Insetos transferidos para esta temperatura dois dias antes do pico de temperatura (item 4.3.1).

Bandejas contendo 3.600 ovos produziram mais insetos do que bandejas inoculadas com 18.000 mantidas a 25°C. Entretanto, quando os insetos foram transferidos para a temperatura de 18°C, houve uma inversão deste número, com o dobro de insetos sendo produzidos naquelas bandejas contendo um maior número de ovos “inoculados” (Tabela 13). Esta diferença se deveu ao incremento térmico ocorrido no primeiro caso, ou seja, quando mantido a 25°C, pois a temperatura elevou-se para 34°C, prejudicando a postura e a viabilidade do período ovo-adulto de *A. kuehniella* (Tabelas 12 e 13).

A viabilidade estimada das bandejas foi semelhante na densidade de 3.600 ovos/bandeja para as duas condições térmicas, próximas a 60%, resultado que difere de bandejas “inoculadas” com 18.000 para as duas condições térmicas (Tabela 13), com tendência semelhante àquela descrita no item 4.3.1.

A estimativa do número de ovos produzidos por bandeja, levando-se em consideração o número de ovos colocados por fêmea das diferentes densidades, condições térmicas e o número de fêmeas emergidas, foi menor nas bandejas “inoculadas” com 3.600 e 18.000 ovos mantidas durante todo o ciclo a 25°C, sendo que a produção de ovos por bandejas com 3.600 ovos e mantidas a 25°C é semelhante a de bandejas com 3.600 ovos e transferidas para 18°C (Tabela 13).

Estima-se que bandejas com 18.000 ovos e transferidas para 18°C antes do pico térmico, sejam as que produzam mais ovos com uma produção de aproximadamente 300.000 ovos a mais que bandejas com 18.000 ovos e mantidas a 25°C, um aumento de aproximadamente 8g de ovos por bandeja (Tabela 13).

Este resultado pode explicar a produção de ovos descrita por Cerutti et al. (1992) que relataram a produção estimada de 33,04 g de ovos, aproximadamente, 1.189.440 para bandejas “inoculadas” com aproximadamente 6.500 ovos/Kg de dieta, uma vez que no presente trabalho estima-se que a densidade de 7.200 ovos/bandeja (bandeja com 1 Kg de dieta) produza 21,05g de ovos, aproximadamente 758.060 ovos (Tabela 10). Possivelmente o acréscimo de 400.000 ovos descrito por Cerutti et al. (1992), em relação às bandejas “inoculadas” com 7.200 ovos no presente trabalho, esteja relacionado com as condições térmicas das bandejas, uma vez que Cerutti et al. (1992) baixaram a temperatura da sala de criação de modo a estabilizar a temperatura do interior da bandeja em 25°C, o que não aconteceu nas bandejas com 7.200 ovos do presente trabalho (Tabela 9).

Tabela 13 - Média do peso total de insetos, estimativa média do número de insetos, viabilidade do período ovo-adulto e número de ovos produzidos por bandeja, provenientes de *A. kuehniella* emergidas de bandejas de criação “inoculadas” com diferentes densidades de ovos e mantidos sob diferentes condições de temperatura. UR: 50 ±10% e fotofase: 14h

Densidade ovos/bandeja ¹	Temperatura °C	Peso total de insetos emergidos (g) ² ±EP ³	Total estimado de insetos ² ±EP ³	Viabilidade da bandeja ² ±EP ³	Número de ovos/bandeja ² ±EP ³
3.600	18*	38,12 ± 1,3 a	2105 ± 69 a	58,48 ± 1,9 a	447.145 ± 14.833 a
	25	36,72 ± 2,6 a	2324 ± 165 a	64,56 ± 4,6 a	351.141 ± 24.943 ac
18.000	18*	54,26 ± 2,2 b	4557 ± 215 b	25,32 ± 1,2 b	620.807 ± 29.330 b
	25	37,90 ± 3,1 a	2913 ± 236 a	16,18 ± 1,3 b	306.502 ± 24.915 c

¹ Bandeja de 40 x 25 de base e 8 cm de altura, contendo 1Kg de dieta (97% farinha de trigo integral e 3% de levedura). ² Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste Tukey ajustado para comparações múltiplas, ao nível de 5% de probabilidade. ³ Erro padrão da média. *Insetos transferidos para esta temperatura dois dias antes do pico de temperatura (item 4.3.1).

A viabilidade dos ovos foi semelhante em todas as densidades e condições térmicas testadas, com valores superiores a 90%. O peso dos ovos provenientes de fêmeas criadas em baixas densidades e mantidas a 25°C foi maior do que o de ovos provenientes de fêmeas, criadas em alta densidade (Tabela 14), como descrito no item 4.3.1; porém, ovos provenientes de fêmeas criadas em baixa densidade e transferidas para 18°C, apresentaram peso semelhante aos dos ovos provenientes de fêmeas originárias de bandejas com alta densidade de insetos.

Tabela 14 - Viabilidade e peso de ovos provenientes de *A. kuehniella* emergidas de bandejas de criação “inoculadas” com diferentes densidades de ovos e mantidas sob diferentes condições de temperatura. Temp. 25± 1°C, UR: 50 ±10% e fotofase: 14h

Densidade n° ovos/bandeja	Temperatura (°C)	Viabilidade dos ovos (%) ² ± EP ⁴	Peso dos ovos (µg) ³ ± EP ⁴
3.600	18*	95 ± 1,67	27,2 ± 1,74 ab
	25	97 ± 1,53	30,0 ± 1,03 a
18.000	18*	97 ± 1,53	22,4 ± 2,32 b
	25	94 ± 2,21	23,9 ± 0,92 b

¹ Bandeja de 40 x 25 de base e 8 cm de altura, contendo 1Kg de dieta (97% farinha de trigo integral e 3% de levedura). ² Dados sem diferença estatística. ³ Médias seguidas da mesma letra não diferenciam entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ⁴ Erro padrão da média. *Insetos transferidos para esta temperatura dois dias antes do pico de temperatura (item 4.3.1).

Por meio dos dados obtidos neste experimento fica claro o efeito do incremento térmico gerado pelo metabolismo das lagartas na capacidade de postura de *A. kuehniella*. No item 4.3.1 foi exposto que as diferentes densidades proporcionaram diferentes incrementos térmicos, fêmeas com diferentes pesos e diferentes capacidades de postura. Neste ensaio, a capacidade de postura de *A. kuehniella*, que foi transferida para 18°C, antes do pico de incremento térmico (4° ínstar), aumentou nas duas densidades, uma vez que a temperatura no interior das bandejas não ultrapassou 28°C.

A temperatura no interior das bandejas que permaneceram a 25°C chegou a 30,9 e 34,5°C nas densidades de 3.600 e 18.000 ovos/bandeja, respectivamente e a capacidade de postura foi inferior àquelas transferidas para 18°C. O número estimado de insetos emergidos aumentou significativamente, em bandejas transferidas para temperaturas baixas, antes do pico térmico, o

que levou, de forma análoga, a um aumento considerável no número de ovos produzidos por bandeja.

Desta forma, em criações massais de *A. kuehniella*, a temperatura das salas de criação deve ser mantida a 18°C, quando as lagartas estiverem no 4º ínstar larval, a fim de se regular a temperatura interna das bandejas em uma temperatura média de 25°C, o que gera considerável aumento na capacidade de postura de *A. kuehniella*, levando-se em consideração a relação entre aumento de produção e consumo de energia elétrica (necessária para resfriamento da sala).

4.4 Produção de dióxido de carbono (CO₂) por bandeja de criação de *A. kuehniella*

A produção de CO₂ por bandeja de criação de *A. kuehniella* apresentou uma relação linear e proporcional, em uma temperatura média de 25°C ± 3 e fotofase de 14h, sendo que quanto maior o número de bandejas, maior a concentração de CO₂; por meio da equação linear obtida com os dados observados pôde-se estimar que uma única bandeja de criação de *A. kuehniella*, com aproximadamente 10.000 lagartas de 5º ínstar, eleva a concentração de CO₂ da sala de criação de 9,79 m³, em 75 ppm (Figura 8), ou seja, uma bandeja produz cerca de 730 mL de CO₂ no interior da sala em 24h. Na sala com maior densidade de bandejas (7 bandejas/m³), a quantidade de CO₂ produzida foi de 39,40 L, aumentando a concentração de CO₂ no interior da sala para 4.400 ppm (Tabela 15).

Extrapolando-se esses valores para uma criação massal onde normalmente 10.000 bandejas são mantidas no interior de salas de criação, de 625m³, pode-se estimar a produção de 7.300 litros de CO₂ por dia, levando-se em consideração que as lagartas devem estar no 5º ínstar (Tabela 15). Porém, deve-se considerar que os 7.300 L de CO₂ proporcionam uma maior concentração no interior da sala de 625 m³, pois a densidade de bandeja no interior da sala é de 16 bandejas/m³, o que resulta numa concentração de CO₂ superior a 10.000 ppm (Figura 8).

A produção CO₂ de uma bandeja por hora apresentou um ritmo médio de 23 mLCO₂/bandeja/h (Tabela 15), quantidade muito menor do que a produção de um ser humano em repouso, que produz 12.000 mL/CO₂/h, segundo o National Institute for Occupational Safety and Health, USA, (NIOSH, 2009). Considerando-se que cada bandeja possuía 10.000 lagartas, pode-se estimar a produção de 0,0023 mLCO₂/lagarta/h ou seja 2,3µLCO₂/lagarta/h.

Figura 8 - Produção de CO₂ por diferentes densidades de bandejas por m³ em sala de criação de *A. kuehniella* com, aproximadamente, 10.000 lagartas de 5º ínstar, em salas de 9,79 m³; 25 ± 3°C, fotofase: 14h

Tabela 15 – Concentração de CO₂ (ppm) produzido pelas bandejas de *A. kuehniella*, no interior das salas de 9,79 m³, quantidade de CO₂ no interior das salas de criação (L) e quantidade de CO₂ produzido por bandeja por hora (mL); temperatura: 25 ± 1°C, fotofase: 14h

Número de bandejas/m ³	CO ₂ (ppm)	CO ₂ L	mL CO ₂ /Bandeja/h
0,1	75*	0,74*	30,67*
1	909	5,13	21,39
2	1533	11,26	23,45
3	2143	17,24	23,95
4	2888	24,56	25,58
6	3688	32,41	22,51
7	4400	39,40	23,45

* Valores estimados.

4.5 Efeito CO₂, na viabilidade do período ovo-adulto e na postura de *A. kuehniella*

A concentração de CO₂ no interior das salas de criação foi igual até o 8º dia de desenvolvimento larval (450 a 550 ppm); a partir do 9º dia, a diferença de concentração de CO₂ no interior das salas tornou-se pronunciada, aumentando gradativamente, em cada sala, até o 25º dia, considerando-se que nesta data as lagartas estavam no 5º ínstar, prestes à pupação; após o 25º dia, o metabolismo dos insetos diminuiu e a concentração de CO₂ no interior das salas de criação começou a cair de forma brusca (Figura 9). Na sala em que foram mantidas 70 bandejas, a concentração máxima de CO₂ foi de 4.425 ppm, uma concentração 13 vezes maior do que a concentração de CO₂ atmosférico; na sala onde 35 bandejas foram mantidas, a concentração de CO₂ atingiu 1.763 ppm, e na sala com 10 bandejas a concentração máxima foi de 1.195 ppm (Figura 9).

Figura 9 - Concentração de CO₂ (ppm) durante o período ovo-adulto de *A. kuehniella*, no interior das salas de criação com diferentes quantidades de bandejas. Temp.: 25 ±3°C, fotofase: 14h

As fêmeas provenientes de imaturos mantidos em salas com menor concentração de CO₂ (1.195 ppm) produziram, em média, 22% a mais de ovos do que as fêmeas provenientes das salas onde a concentração de CO₂ foi superior a 1.500 ppm. Fêmeas provenientes de salas onde a concentração de CO₂ atingiu 1.763 e 4.424 ppm, colocaram o mesmo número de ovos (Tabela

16). Segundo Press, Flaherty e Arbogast (1973) a exposição de fêmeas de *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) recém emergidas à concentrações de 96% de CO₂ (960.000 ppm) suprime o desenvolvimento dos ovários do inseto e o número de ovos colocados cai significativamente, mesmo quando os insetos são transferidos para concentrações de CO₂ do ambiente.

O peso das fêmeas, do primeiro dia de coleta, provenientes das diferentes concentrações de CO₂ foi semelhante, assim como a longevidade das mesmas (Tabela 16). Machos emergidos de bandejas, mantidas em salas onde a concentração de CO₂ atingiu 4.425 ppm, apresentaram menor longevidade do que machos provenientes de bandejas mantidas em salas onde a concentração de CO₂ chegou a 1763 e 1195 ppm (Tabela 16). Tais resultados apontam que os machos possuem maior sensibilidade às condições de CO₂ durante as fases imaturas, pois não é possível fazer tal avaliação em fêmeas, pois elas morrem logo após terminarem a postura. Assim, os machos devem ser considerados padrão para este tipo de avaliação.

Tabela 16 - Número de bandejas por m³, média do peso, número de ovos por fêmeas, longevidade de *A. kuehniella*, emergidos de bandejas de criação mantidas em salas com diferentes concentrações de CO₂ (metabólico) e concentração máxima de CO₂ (ppm) no interior das salas. Temperatura: 25 ±3°C, UR: 60 ±10%, fotofase: 14h e 350±100 ppm de CO₂.

Número de bandejas/sala	Densidade bandeja/m ³	Peso de fêmeas (mg) ^{1,5} ±EP ⁴	Nº de ovos/fêmea ² ±EP ⁴	Longevidade (dias)				Concentração máxima de CO ₂ (ppm)
				♂ ³ ±EP ⁴	♀ ¹ ±EP ⁴			
10	1,02	21,08 ± 0,64	427,55 ± 23,67 a	12,25 ± 0,58 a	7,47 ± 0,24			1195
35	3,57	22,04 ± 0,49	328,65 ± 14,07 b	13,50 ± 0,61 a	8,00 ± 0,44			1763
70	7,14	21,89 ± 0,63	343,15 ± 20,09 b	7,70 ± 0,48 b	8,05 ± 0,41			4425

¹Dados sem diferença estatística. ²Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. ³Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Log-rank. ⁴Erro padrão da média. ⁵Fêmeas do primeiro dia de coleta.

O número total de insetos emergidos (bem como o respectivo peso) por bandeja das diferentes concentrações de CO₂ foi semelhante em todos os tratamentos, bem como, a viabilidade estimada do período ovo-adulto para cada tratamento (Tabela 17). Porém, ao se estimar o número de ovos produzido por bandeja, relacionando número de ovos colocados por fêmea e número de fêmeas emergidas, pôde-se observar uma maior produção em bandejas mantidas em concentrações abaixo de 1.500 ppm. Pode-se inferir que estas bandejas produzam cerca de 200.000 ovos (aproximadamente 5 g) a mais do que aquelas mantidas em concentrações superiores a 1.500 ppm (Tabela 17).

Desta forma, o acúmulo de CO₂, ainda pouco estudado, deve ser levado em consideração para criações massais de *A. kuehniella* para a produção de *Trichogramma* e outros inimigos naturais, pois a concentração elevada de CO₂ pode diminuir a produção de ovos, que representam muito na criação de um inimigo natural, além de causarem problemas àqueles que se dedicam à manipulação diária destes insetos em salas com altas concentrações de CO₂.

Segundo o NIOSH, (2009) a exposição a altas concentrações de CO₂ pode causar distúrbios visuais, dor de cabeça, reduzir a habilidade de reação, provocar a sensação de falta de ar e dispnéia e induzir narcose, similar ao óxido nítrico. O NIOSH (2009) refere que pessoas em repouso toleram, sem restrição, concentrações de até 15.000 ppm; de forma análoga, concentrações de 30.000 ppm são toleradas por até 15h por pessoas em repouso, enquanto pessoas executando serviços pesados toleram por apenas 30 minutos esta concentração. Quando existe muito CO₂, cerca de 70.000 ppm, pessoas em repouso toleram esta condição por menos de 30 minutos, enquanto que aquelas realizando trabalho pesado entram em colapso e ficam inconscientes em um período não determinado.

Tabela 17 - Média do peso total de insetos, estimativa média do número de insetos, viabilidade do período ovo-adulto e número de ovos produzidos por bandeja, proveniente de *A. kuehniella* emergidos de bandejas de criação mantidas em salas com diferentes concentrações de CO₂ (metabólico). Temperatura 25 ±3°C, UR: 60 ±10%, fotofase: 14h e 350±100 ppm de CO₂

Número de bandejas/sala	Peso total de insetos/bandeja ¹ (g)±EP ³			Total estimado de insetos/bandeja ¹ ±EP ³			Viabilidade estimada/bandeja ¹ ±EP ³			Número de ovos estimado/bandeja ² ±EP ³			
10	64,78	±	3,1	4.513	±	218	45,13	±	2,2	964.885	±	46.711	a
35	63,8	±	1,1	4.728	±	95	47,3	±	0,9	777.001	±	15.721	b
70	67,38	±	1,7	4.468	±	107	44,7	±	1,1	766.655	±	18.521	b

¹ Dados sem diferença estatística. ² Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. ³ Erro padrão da média.

A viabilidade dos ovos colocados por fêmeas mantidas durante os estágios imaturos em diferentes concentrações de CO₂ não foi afetada, sendo igual para todas as concentrações e superiores a 90%; o peso dos ovos também não foi afetado pelas diferentes concentrações de CO₂ às quais os imaturos foram expostos (Tabela 18).

Tabela 18 - Viabilidade e peso de ovos provenientes de fêmeas de *A. kuehniella* emergidas de bandejas de criação mantidas em salas com diferentes concentrações de CO₂ (metabólico). Temperatura 25 ±3°C, UR 60 ±10%, fotofase de 14h e 350±100 ppm de CO₂

Número de bandejas/sala	Viabilidade dos ovos (%) ¹ ± EP ²			Peso dos ovos (µg) ¹ ± EP ²		
10	97	±	1,52	24,0	±	0,99
35	98	±	1,33	24,4	±	0,78
70	97	±	1,53	24,4	±	0,78

¹Dados sem diferença estatística. ²Erro padrão da média

O CO₂ produzido pelo metabolismo das lagartas interferiu na capacidade de postura de *A. kuehniella*, sendo que fêmeas mantidas em baixas concentrações (1.195 ppm) colocaram mais ovos do que fêmeas mantidas em concentrações superiores a 1.700 ppm.

Para criações massais de *A. kuehniella* sugere-se que a concentração de CO₂ no interior das salas seja mantido abaixo de 1.700 ppm, para maior produção de ovos. Além disto, deve ser considerado o gasto com energia elétrica, para resfriamento e troca de ar, não avaliado no presente trabalho, e que pode onerar o custo de produção.

5 CONCLUSÕES

A condição ótima de criação de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) é obtida quando as lagartas no interior das bandejas são mantidas na temperatura de 25°C. Entretanto, como ocorre um incremento térmico, entre 7 e 9°C, devido ao elevado metabolismo larval no 4º e 5º ínstaes, deve-se manter a sala de criação com temperaturas mais baixas no referido período, para que se consiga a citada condição ótima. A concentração máxima de CO₂, no interior da sala de criação, deve ser inferior a 1.200 ppm, considerando-se salas com bandejas de criação contendo 1 Kg de dieta (97% de farinha de trigo integral e 3% de levedura) e que foram “inoculadas” com 7.200 ovos, uma vez, que esta densidade proporciona uma viabilidade satisfatória do período ovo-adulto (78,37%), produzindo ainda uma maior quantidade de ovos por bandeja e ovos de *A. kuehniella* mais pesados. Esta conclusão baseou-se nos resultados dos experimentos realizados:

- a- A faixa térmica favorável ao desenvolvimento de *A. kuehniella* é de 20 a 30°C. A partir de 30°C ocorre uma acentuada diminuição das viabilidades das fases de ovo e lagarta;
- b- A melhor temperatura para manutenção de *A. kuehniella* desde ovos até a morte dos adultos é a de 25°C;
- c- Com base nas exigências térmicas, é possível obter-se 6.6 gerações anuais de *A. kuehniella* em laboratório com temperatura de 25°C;
- d- Temperaturas de 30 e 32°C levam a deformações nas estruturas de acoplamento de machos de *A. kuehniella*, reduzindo a viabilidade dos ovos, além do que ovos e fêmeas provenientes destas temperaturas possuem menor peso;
- e- A temperatura de criação dos imaturos afeta a capacidade de postura e viabilidade de ovos;
- f- A manutenção de adultos em diferentes temperaturas, após serem criados em temperaturas constantes, nas fases imaturas, não interfere na capacidade de postura da espécie;

- g- No 4° e 5° ínstaes ocorre um incremento térmico entre 7 e 9°C, dependendo da densidade larval de *A. kuehniella*;
- h- A produção máxima de ovos é obtida “inoculando-se” 7.200 ovos por bandeja, sendo as fêmeas e ovos obtidos nesta densidade mais pesados do que nas densidades maiores;
- i- Mantendo-se a temperatura da bandeja de criação de *A. kuehniella* em temperaturas de 25°C, durante o período de maior incremento térmico, obtém-se um aumento na produção de ovos de até 8g por bandeja;
- j- Uma bandeja de criação com aproximadamente 10.000 lagartas de 5° ínstar de *A. kuehniella* produz cerca de 740 mL de CO₂ em 24h, sendo que a concentração de CO₂ em uma sala de 3,60 m² ou 9,79m³, com 70 bandejas de criação de *A. kuehniella*, pode chegar a 4.425 ppm;
- k- A concentração de CO₂ em uma sala de 3,60 m² ou 9,79m³, com 70 bandejas de criação de *A. kuehniella*, pode chegar a 4.425 ppm;
- l- Fêmeas provenientes de salas de criação em que a concentração de CO₂ não ultrapasse 1.200 ppm ovipositam mais do que fêmeas provenientes de salas em que a concentração de CO₂ é maior;
- m- Bandejas contendo *A. kuehniella* provenientes de salas em que a concentração de CO₂ é inferior a 1.200 ppm, produzem 5g a mais de ovos do que aquelas provenientes de salas em que a quantidade de CO₂ for maior.

REFERÊNCIAS

- ALINIAZEE, M.T. Effect of carbon dioxide gas on respiration of the confused flour beetle. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 64, p. 1304-1305, 1971.
- BELL, C.H. Effects of temperature and humidity on development of four pyralid moth pests of stored products. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 11, p. 167-175, 1975.
- _____. Effect of cultural factors on the development of four stored-product moths. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 12, p. 185-193, 1976.
- _____. The influence of light cycle and circadian rhythm on oviposition in five pyralid moth pest of stored products. **Physiological Entomology**, Oxford, v. 6, p. 231-239, 1981.
- BIRCH, L.C. The oxygen consumption of the small strain of *Calandra oryzae* L. and *Rhyzopertha dominica* Fab. as affected by temperature and humidity. **Ecology**, Washington, v. 28, p. 17-25, 1947.
- BRINDLEY, T.A. The growth and development of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera) and *Tribolium confusum* Duval (Coleoptera) under controlled conditions of temperature and relative humidity. **Annals of Entomological Society of America**, Columbus, v. 23, p. 741-757, 1930.
- CARLSON, S.D. Respiration of the confused flour beetle in five atmospheres of varying CO₂:O₂ ratios. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 61, p. 94-96, 1968.
- CERUTTI, F.; BIGLER, F.; EDEN, G.; BOSSHART, S. Optimal larval density and quality control aspects in mass rearing of the Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Phycitidae). **Journal of Applied Entomology**, Hamburg, v. 114, p. 353-361, 1992.
- COFIE-AGBLOR, R.; MUIR, W.E.; ZHANG, O.; SINHA, R.N. CO₂ production by *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) in stored wheat under adiabatic conditions. **Journal of Agricultural Engineering Research**, Bedford, v. 62, p. 95-104, 1995.
- CORNELISSEN, T.; STILING, P.; DRAKE, B. Elevated CO₂ decreases leaf fluctuating asymmetry and herbivory by leaf miners on two oak species. **Global Changes Biology**, Urbana, v. 10, p. 27-36, 2003.
- COX, P.D.; MFON, M.; PARKIN, S.; SEAMAN, J.E. Diapause in a Glasgow strain of the flour moth, *Ephestia kuehniella*. **Physiological Entomology**, Oxford, v. 6, p. 349-356, 1981.
- CYMBOROWSKI, B.; GIEBOLTOWICZ, J.M. Effects of photoperiod on development and fecundity in flour moth *Ephestia kuehniella*. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 22, p. 1213-1217, 1976.

DAUMAL, J.; BOINEL, H. Variability in fecundity and plasticity of oviposition behavior in *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Annals of Entomological Society of America**, Lanhan, v. 87, p. 250-256, 1994.

DAVISON, J. On the relationship between temperature and rate of development of insects at constant temperatures. **Journal of Animal Ecology**, London, v. 13, p. 26-38, 1944.

DELUCIA, E.H.; DERMODY, O.; O'NEILL, B.; ALDEA, M.; HAMILTON, J.G.; ZANGERL, A.R.; ROGERS, A.; BERENBAUM, M.R. Influence of elevated ozone and carbon dioxide on insect densities. In: ILLINOIS PRODUCTION TECHNOLOGY CONFERENCE, 2005, Urbana. **Proceedings...** Urbana: University of Illinois, 2005. p. 13-15.

DEUTSH, C.; TEWKBURY, J.J.; HUEY, R.B.; SHELDON, K.S.; GHALAMBOR, C.K.; HAAK, D.C.; MARTIN, P.R. Impacts of climate warming on terrestrial ectotherms across latitude. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 105, p. 6668-6672, 2008.

EMEKCI, M.; NAVARRO, S.; DONAHAYE, E.; RINDNER, M.; AZRIELI, A. Respiration of *Rhyzopertha dominica* (F.) at reduced oxygen concentrations. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 40, n. 1, p. 27-38, 2004.

FLANDERS, S.E. Biological Control of the codling moth. **Journal of Economic Entomology**, Lanhan, v. 20, p.644, 1927.

GEISTER, T.L.; LORENZ, M.W.; MEYERING-VOS, M.; HOFFMANN, K.H.; FISCHER, K. Effects of temperature on reproductive output, egg provisioning, juvenile hormone and vitellogenin titres in the butterfly *Bicyclus anynana*. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 54, p. 1253–1260, 2008.

GUERENSTEIN, P.G.; HILDEBRAND, J.G. Roles and effects of environmental carbon dioxide in insect life. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 53, p. 161-178, 2008.

HADDAD, M.L.; PARRA, J.R.P. **Métodos para estimar os limites térmicos e a faixa ótima de desenvolvimento das diferentes fases do ciclo evolutivo de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1984. 12 p.

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

HUGHES, L.; BAZZAZ, F.A. Effects of elevated CO₂ on five plant-aphid interactions. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht v. 99, p.87-96, 2001.

JACOB, T.A.; COX, P.D. The influence of temperature and humidity on the life-cycle of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 13, p. 107-118, 1977.

LEPPLA, N.C.; TURNER, W.K. Carbon dioxide output and mating in adult cabbage looper moths exposed to discrete light regimes. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 21, p. 1233-1236, 1975.

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

LINDGREN, D.L.; VINCENT, L.E. Effect of atmospheric gases alone or in combination on the mortality of granary and rice weevils. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 63, p. 1926-1929, 1970.

LUM, P.T.M. Effect of carbon dioxide anesthesia at eclosion upon mating efficiency of male *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 10, p. 69-71, 1974.

LUM, P.T.M.; FLAHERTY, B.R. Effect of carbon dioxide on production and hatchability of eggs of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Phycitidae). **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v.65, p. 976-977, 1972.

LUM, P.T.M.; PHILLIPS, R.H. Combined effects of light and carbon dioxide on egg production of Indian meal moths. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 65, p. 1316-1317, 1972.

MORAES, G.W.G. de; BRUN, P.G.; SOARES, L.A. Insetos x insetos nova alternativa para o controle de pragas. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, v. 1, p. 70-77, 1983.

NATIONAL INSTITUTE FOR OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/niosh/nppt/resources/certpgmspt/meetings/09172009/pdfs/9CO202PresentWJW.pdf>>. Acesso em: 13 out. 2010.

NAVARRO, S.; CALDERON, M. Exposure of *Ephestia cautella* (Wlk.) pupae to carbon dioxide concentrations at different relative humidities: The effect on adult emergence and loss in weight. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 10, p. 237-241, 1974.

NICHOLLS, C.I.; ALTIERI, M.; SANCHES, J.E. **Manual práctico de control biológico para una agricultura sustentable**, California: Asociación Vida Sana, 1999. 86 p.

NICOLÁS, G.; SILLANS, D. Immediate and latent effects of carbon dioxide on insects. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 34, p. 97-116, 1989.

NORRIS, R.F.; CASWELL-CHEN, E.P.; KOGAN, M. **Concepts in integrated pest management**. New Jersey: Prentice Hall, 2003. 586 p.

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

PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. Controle biológico: terminologia. In: _____. **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 1-13.

PARRA J.R.P.; LOPES, J.R.S.; BIRAL, E.; GOUVEIA, P.R.C. Número ideal de ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller 1879) por caixa de criação para pesquisas com *Trichogramma* spp. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 18, p. 391-402, 1989.

PARRA, J.R.P.; VINSON, S.B.; GOMES, S.M.; CÔNSOLI, F.L. Flight response of *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae) in a wind tunnel to volatiles associated with infestations of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). **Biological Control**, Dordrecht, v. 6, p. 143-150, 1996.

PRESS, J.W.; FLAHERTY, B.R.; ARBOGAST, R.T. Oocyte maturation in *Tribolium castaneum* after repetitive sublethal carbon dioxide exposures. **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 66, p. 480-481, 1973.

SAS INSTITUTE. **SAS system: SAS/STAT** version 9.1. Cary, 2003

SCHROEDER, J.B.; GRAY, M.E.; RATCLIFFE, S.T.; ESTES, R.E.; LONG, S.P. Effects of elevated CO₂ and O₃ on a variant of the western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). **Environmental Entomology**, Lanham, v. 35, p. 637-644, 2006.

SINGH, N.B.; CAMPBELL, A.; SINHA, R.N. An energy budget of *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 69, p. 503-512, 1976.

SINHA, R.N.; MADRID, F.J.; WHITE, N.D.G. Bioenergetics of *Ephestia cautella* (Walker) (Lepidoptera: Phycitidae) feeding on stored wheat. **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 79, p. 622-628, 1986.

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

STEIN, C.P. **Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) para estudos com *Trichogramma***. 1985. 89 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1985.

STEIN, C.P.; PARRA, J.R.P. Aspectos biológicos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) criada em dois substratos alimentares. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 16, p. 173-185, 1987.

STILING, P.; CORNELISSEN, T. How does elevated carbon dioxide (CO₂) affect plant-herbivore interactions? A field experiment and meta-analysis of CO₂- mediated changes on plant chemistry and performance. **Global Changes Biology**, Urbana, v. 13, p. 1823-1842, 2007.

TURNER, W.K.; LEPLA, N.C.; CHEW, V.; LEE, F.L. Light quality influences on carbon dioxide output and mating of cabbage looper moths. **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 70, p. 259-263, 1977.

VAN LENTEREN, J.C. Current situation of biological control (including region/country reviews). In:_____. **IOBC Internet Book of Biological Control**. Wageningen: IOBC, 2008. chap. 5, p. 41-51.

VINCENT, L.E.; LINDGREN, D.L. Influence of fumigation and carbon dioxide production of some stored-product insects. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 58, p. 660-664, 1965.

WHITE, N.D.G.; SINHA, R.N.J. Energy budget for *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Cucujidae) feeding on rolled oats. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 10, p. 320-326, 1981.