**CONTROLE BIOLÓGICO DE *Ecdytolopha aurantiana*
(Lima, 1927) (LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE) COM
Trichogramma atopovirilia Oatman & Platner, 1983**

MARIUXI LORENA GÓMEZ TORRES

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de
São Paulo, para obtenção do título de Mestre em
Ciências, Área de Concentração: Entomologia.

P I R A C I C A B A

Estado de São Paulo - Brasil

Abril - 2005

**CONTROLE BIOLÓGICO DE *Ecdytolopha aurantiana*
(Lima, 1927) (LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE) COM
Trichogramma atopovirilia Oatman & Platner, 1983**

MARIUXI LORENA GÓMEZ TORRES

Bióloga

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

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de
São Paulo, para obtenção do título de Mestre em
Ciências, Área de Concentração: Entomologia.

P I R A C I C A B A

Estado de São Paulo - Brasil

Abril - 2005

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/ USP

Gómez Torres, Mariuxi Lorena

Controle biológico de *Ecdytoplopha aurantiana* (Lima, 1927) (Lepidoptera: Tortricidae)
com *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 / Mariuxi Lorena Gómez Torres.
- - Piracicaba, 2005.

101 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2005.

1. Bicho-furão-dos-citros 2. Biologia 3. Controle biológico 4. Radioisótopo I. Título

CDD 632.78

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

“Pouco conhecimento faz que as criaturas se sintam orgulhosas, muito conhecimento faz com que se sintam humildes, é assim que as espigas sem grãos erguem desdenhosamente a cabeça para o céu, enquanto que as cheias as baixam para a terra, sua mãe”

Leonardo Da Vinci.

Aos meus pais, Petita Torres Touriz e Augusto Gómez Martínez, pelo amor, dedicação e incentivo; “meus primeiros mestres” que me motivaram na busca do “umbral” de meu próprio espírito;

À minha irmã, Andrea Gómez Torres, minha companheira e “cúmplice” meu apoio e fortaleza, o melhor presente que a vida me ofereceu.

A Gustavo González Burgas, “Gugu”, um futuro pesquisador e meu incentivo para dar continuidade aos meus sonhos;

Ao biólogo Antonio Aguirre (*in memoriam*), porque sempre existirão vínculos que unam os seres humanos.

OFEREÇO

À Ana Milena Alvarez, Rosemari Rodrigues Padilha e Rosecler Padilha Scanavaca,
pela ajuda e estímulo na compreensão da minha essência adaptando-me
ao caminho para continuar sem esquecer dos meus objetivos.

À Nora Cristina Mesa, pelo apoio e incentivo, porque resgatando as coisas boas que
surgem das dificuldades, criam-se fundamentos de confiança
diante dos obstáculos futuros.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, meu fundamento para continuar o caminho;

Ao Dr. José Roberto Postali Parra, Professor Titular do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola e Diretor da Esalq-USP, pela orientação, apoio, incentivo e pelas valiosas discussões na condução deste trabalho e pelo exemplo de dedicação e profissionalismo;

Ao Instituto Ecuatoriano de Crédito Educativo y Becas (IECE) e ao Fundo de Defesa da Citricultura Paulista (FUNDECITRUS), pela concessão das bolsas de estudo;

Ao Grupo FISCHER S/A AGROPECUÁRIA, pela concessão da área experimental e aos engenheiros agrônomos Helton C. de Leão, Celso Nogueira, Luciano Spada, Domingos Portolani, Luiz Roberto Oliveira Mattoso, Donizete Coelho de Souza, Cesar Patrick Alton Bertoluci e demais funcionários, pela valiosa colaboração e suporte técnico.

Aos engenheiros agrônomos Silvio Baggio, proprietário da Fazenda Nossa Senhora da Paz, pela concessão da área experimental e a Ademir Diniz de Almeida pela colaboração.

Ao professor Dr. Walter Arthur, do Laboratório de Irradiação de Alimentos e Radioentomologia do CENA-USP, pela colaboração e orientação;

Ao Dr. José Maurício Simões Bento, professor do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, pela amizade e relevante colaboração para a realização desta pesquisa;

Aos professores Dra. Marinéia de Lara Haddad pelas sugestões e auxílio nas análises estatísticas, ao Dr. Sinval Silveira Neto, pelas valiosas idéias e ao Dr. Fernando Cònsoli pelas sugestões.

Aos Professores do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, pelos ensinamentos transmitidos.

Ao Professor Dr. Elliot W. Kitajima, pelo apoio e uso dos equipamentos de microscopia eletrônica do NAP-MEPA da Esalq – USP.

À Msc. Nora Cristina Mesa e Isabel Cristina Zuluaga, pela colaboração na realização deste trabalho e sobretudo pelos incentivos nas horas difíceis.

Aos meus familiares, Lourdes Burgas, Mérida Touriz, Felix Torres, Elida Mite, Nicolás Torres, Delia Mayeza e Mariano González, pelo constante e incentivo e apoio.

À engenheira Ana Milena Alvarez, entomologista da Sociedad Agrícola e Industrial San Carlos S.A no Equador; uma verdadeira “Sensei” pelos valiosos ensinamentos, orientação e incentivos no plano pessoal e profissional.

Aos Msc. Jorge Mendoza entomologista do Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador (CINCAE), e ao agrônomo Alfonso Ayora do Setor de Entomologia da Sociedad Agrícola e Industrial San Carlos S.A, pela confiança e grande amizade;

Às minhas queridas amigas do Instituto Catequista Dolores Sopena pela valiosa amizade, apoio constante e por permitir-me ser parte desta “Gran familia”.

À Letty Poveda, pela amizade, confiança e pelo exemplo de luta e dedicação.

Aos meus amigos de sempre, Adriana Granizo, Sheyla Peñafiel, Paola Montenegro, Tania Cuesta, María Marcatoma, Francisco Urueta, Miguel Calderón, William Casquete, Vicenta Berneo, Verónica Valencia, Cecilia Saltos, Carlos Calderon, Holger Vargas, Richard Delgado, Juan Manuel Ponce, Danilo Alvarado, Angel Indacochea, Juan Loor, Miguel Loor e José Pinargote; pelo valioso tesouro chamado amizade que compartilharam sempre comigo;

Às bibliotecárias Silvia Zinsly e Eliana M. Garcia, da divisão de Biblioteca e Documentação -ESALQ, pela colaboração na correção das referências bibliográficas e normas da dissertação.

À Neide Graciano Zério, e o Msc. Peter Kasten Jr, pela valiosa amizade, colaboração e profissionalismo;

À Bug Agentes Biológicos e ao biólogo Heraldo Negri pelo fornecimento do material de liberação, pelas sugestões e pela amizade.

À equipe do Laboratório de Biologia de Insetos: Amarildo Pasini, Maria Aparecida B. Leão, Sandra R. Magro, Ana Lia P. Pedrazzoli, José Francisco Garcia, Nívia Dias, Cristiane Nardi, Gilberto Domingues, Tatiana Ibelli, Daniel J. Cerântola, Eliane Grisoto, Marjorie Rodrigues, Marina Martins, Ademir Neves e Giuliano Zacarin, pela amizade e colaboração.

Aos doutores Dori Edson Nava, Teresinha Giustolin e à bióloga Adriana Marques pela amizade e colaboração neste trabalho;

Ao Danilo José Libardi, André H. Costa, Vanderlei Natal, André Signoretti, Gustavo Libardi, e a Flávia de Moura Bento, pela amizade, apoio e colaboração; meus “camaradas” e companheiros de viagem e trabalho;

Aos colegas Priscila Fortes, Erich Stingel, Eduardo Diehl e Eduardo Primiano, pela amizade e por todos os momentos compartilhados.

Às Irmãs da Comunidade do Cenáculo, pela acolhida e amizade.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	xiii
LISTA DE FIGURAS	xiv
RESUMO	xix
SUMMARY	xxi
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Taxonomia e distribuição geográfica de <i>Ecdytolopha aurantiana</i> (Lima, 1927)	4
2.2 Bioecologia e comportamento	5
2.3 Danos e importância econômica	6
2.4 Controle de <i>E. aurantiana</i> em pomares cítricos	7
2.4.1 Controle químico	8
2.4.2 Controle biológico.....	8
2.4.3 Controle Microbiano	9
2.4.4 Controle cultural	9
2.5 Biologia de espécies de <i>Trichogramma</i>	9
2.6 Uso de <i>Trichogramma</i> em programas de controle biológico.....	11
2.7 Controle de pragas em frutíferas com espécies de <i>Trichogramma</i>	12
2.8 Seleção de espécies de <i>Trichogramma</i> para as liberações	14
2.9 Estratégias de liberações em campo	15
2.9.1 Dispersão de <i>Trichogramma</i> spp. em campo	17
2.9.2 Época , frequência e número de parasitóides liberados	18
2.9.3 Fatores que afetam as liberações.....	19

2.10	Marcações de insetos com radioisótopos	21
2.10.1	Efeitos das marcações com radioisótopos.....	23
2.11	Marcações de <i>Trichogramma</i> spp. com técnicas de radioisótopos	23
3	MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1	Criação de manutenção de <i>Ecdytolopha aurantiana</i> (Lima, 1927).....	25
3.2	Criação e manutenção de populações de espécies de <i>Trichogramma</i>	26
3.3	Seleção de espécies de <i>Trichogramma</i>	28
3.4	Capacidade de parasitismo de <i>T. atopovirilia</i> sobre ovos de <i>E. aurantiana</i>	30
3.4.1	Influência do tempo de exposição e da temperatura sobre o parasitismo de <i>T. atopovirilia</i>	30
3.4.2	Efeito da disponibilidade de alimento sobre o parasitismo de <i>T. atopovirilia</i>	30
3.4.3	Efeito da idade do ovo sobre o parasitismo de <i>T. atopovirilia</i>	31
3.5	Marcação de <i>T. atopovirilia</i> com ^{32}P para determinação da capacidade de dispersão no campo	32
3.6	Estratégias de liberação de <i>T. atopovirilia</i> em pomares cítricos.....	35
3.6.1	Técnica de liberação	35
3.6.2	Determinação da frequência, quantidade de parasitóides e época de liberação de <i>T. atopovirilia</i> por unidade de área	39
3.6.2.1	Liberações em período de alta infestação	40
3.6.2.2	Liberações em período de baixa infestação	42
3.6.2.2.1	Avaliação do parasitismo sobre posturas em dois substratos de oviposição.....	45
3.7	Capacidade de dispersão de <i>T. atopovirilia</i> marcado com ^{32}P	45
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.1	Seleção de espécies de <i>Trichogramma</i>	49
4.2	Capacidade de parasitismo de <i>T. atopovirilia</i> sobre ovos de <i>E. aurantiana</i>	53
4.2.1	Influência do tempo de exposição e da temperatura sobre o parasitismo de <i>T. atopovirilia</i>	53

4.2.2 Efeito da disponibilidade de alimento sobre o parasitismo de <i>T. atopovirilia</i>	57
4.2.3 Efeito da idade do ovo sobre a preferência do parasitismo de <i>T. atopovirilia</i>	60
4.3 Marcação de <i>T. atopovirilia</i> com ^{32}P para determinar capacidade de dispersão em campo	62
4.4 Determinação da frequência, quantidade, e época de liberação de <i>T. atopovirilia</i> por unidade de área	66
4.4.1 Liberações em período de alta infestação	67
4.4.2 Liberações em período de baixa infestação	69
4.4.2.1 Avaliação do parasitismo sobre posturas em dois substratos de oviposição.....	72
4.5 Capacidade de dispersão de <i>T. atopovirilia</i> em pomares cítricos	74
5 CONCLUSÕES	79
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81

LISTA DE TABELAS

	Página
1 Porcentagem de parasitismo durante 24 horas, longevidade de fêmeas, emergência e número de adultos de <i>Trichogramma atopovirilia</i> por ovo de <i>Ecdytolopha aurantiana</i> . Temperatura: 25±1°C, UR: 70±10% e fotofase: 14 horas	58
2 Médias de contagem por minuto (cpm) das marcações de <i>Trichogramma atopovirilia</i> com ³² P e respectivos intervalos de variação	63
3 Médias de contagem por minuto (cpm) das marcações de <i>Trichogramma atopovirilia</i> com ³² P em ovos de <i>Ecdytolopha aurantiana</i> em condições de campo, diretamente (adultos marcados) e indiretamente (ovos parasitados no campo)	75

LISTA DE FIGURAS

	Página
1 Criação de <i>Ecdytolopha aurantiana</i> em laboratório. A- Prateleira de madeira com tubos em posição inclinada pra o desenvolvimento larval; B- Tubo com dieta artificial contendo pupas e adultos; C- Gaiola de madeira as laterais de polietileno (local de postura); D- Posturas em substrato de polietileno.....	26
2 Criação e manutenção de <i>Trichogramma</i> . A,B- Cartelas com ovos de <i>A. kuehniella</i> para o parasitismo e desenvolvimento larval/pupal dos parasitóides; C- Coleção de espécies/linhagens de <i>Trichogramma</i> do Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP	27
3 Tubos de vidro com chumaços de algodão tratados com sulfato de cobre a 1%; contendo os ovos de <i>Ecdytolopha aurantiana</i> parasitados por <i>Trichogramma atopovirilia</i> (no detalhe, ovos parasitados)	29
4 Teste para avaliar o efeito da idade do ovo sobre o parasitismo por <i>Trichogramma atopovirilia</i> . Placas de Petri vedadas com filme de PVC. A- Teste de livre escolha. B- Teste de confinamento. Temperatura: 25±2°C, UR: 70±10% e fotofase: 14 horas.....	32
5 Determinação de material radioativo (³² P) assimilado por <i>Trichogramma atopovirilia</i> . A- Cintilador liquido; B- Frascos com 5ml de água e ovos de <i>Ecdytolopha aurantiana</i> após o parasitismo; C- Tubos para medição em CPM (contagem por minuto) do material marcado	33

6	Esquema da marcação de <i>Trichogramma atopovirilia</i> com ^{32}P . A- Solução de mel e ^{32}P ; B- Fêmea do parasitóide alimentando-se com a solução radioativa; C- Fêmea marcada parasitando ovo de <i>E. aurantiana</i> ; D- Ovo parasitado e marcado; E- Emergência de indivíduo da geração F ₁ marcado.....	34
7	Vista aérea de uma parte do setor 137 da Fazenda Entre Rios, em Gavião Peixoto, SP, mostrando as parcelas de 0,23 ha com as 15 árvores marcadas onde foram feitas as liberações do parasitóide	36
8	Etiqueta de material plástico, pendurada com barbante, utilizada para marcar as árvores onde foram feitas às liberações e avaliações periódicas de <i>Trichogramma atopovirilia</i>	37
9	Metodologia de liberação de <i>Trichogramma atopovirilia</i> em pomares cítricos. A- Copo plástico com tampa contendo material para ser levado na área experimental; B- Liberação do parasitóide em campo; C- Copo preso no galho da árvore contendo cartolina com <i>Trichogramma</i>	38
10	Armadilha Ferocitrus Furão [®] instalada na parte superior da planta para monitorar, semanalmente, a presença de <i>Ecdytolopha aurantiana</i> . Em detalhe armadilha com adultos capturados, na parte superior esquerda da figura.....	39
11	Vista aérea do setor 137 da fazenda Entre Rios, Gavião Peixoto, SP, mostrando os tratamentos e os pontos de liberação de <i>Trichogramma atopovirilia</i> . A especificação dos tratamentos encontra-se na parte superior da figura	41
12	Esquema de uma das parcelas experimentais na Fazenda Entre Rios, em Gavião Peixoto, SP; A- Pontos de avaliação do parasitismo por <i>Trichogramma atopovirilia</i> ; B- Pontos de avaliação dos danos causados por <i>Ecdytolopha aurantiana</i> . A especificação dos tratamentos encontra-se na parte inferior das figuras.....	43

13 Postura de <i>Ecdytolopha aurantiana</i> em polietileno fixado ao fruto para infestação artificial no pomar nos meses de julho a setembro	43
14 Metodologia para infestação artificial de <i>Ecdytolopha aurantiana</i> . A- Gaiola para obtenção de posturas sobre frutos; B- Fêmeas de <i>E. aurantiana</i> ovipositando; C- Ovo de <i>E. aurantiana</i> sobre o fruto; D- Frutos contendo ovos, pendurados nas arvores com ganchos de arame. A seta indica a localização do gancho de arame	44
15 Esquema de liberação de <i>Trichogramma atopovirilia</i> marcado com ^{32}P e sua dispersão em Pirassununga, SP, na Fazenda Nossa Senhora da Paz. Em destaque uma das parcelas com os 4 tratamentos. A especificação dos tratamentos encontra-se na parte inferior esquerda da figura	48
16 Número médio de ovos de <i>Ecdytolopha aurantiana</i> parasitados por <i>Trichogramma atopovirilia</i> e <i>T. pretiosum</i> . Período de parasitismo: 24 horas. Temperatura: $25\pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70\pm 10\%$ e fotofase: 14 horas. Médias seguidas de mesma letra, nas barras, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P\leq 0,05$)	50
17 Porcentagem de parasitismo de <i>Trichogramma atopovirilia</i> e <i>T. pretiosum</i> em ovos de <i>Ecdytolopha aurantiana</i> . Período de parasitismo: 24 horas. Temperatura: $25\pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70\pm 10\%$ e fotofase: 14 horas. Médias seguidas de mesma letra, nas barras, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P\leq 0,05$)	51
18 Parasitismo médio diário e acumulado de <i>Trichogramma atopovirilia</i> em ovos de <i>Ecdytolopha aurantiana</i> . Temperatura: $25\pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70\pm 10\%$ e fotofase: 14 horas	52
19 Parasitismo de <i>Trichogramma atopovirilia</i> em ovos de <i>Ecdytolopha aurantiana</i> por períodos de 1, 2, 3, 4 e 5 horas nas temperaturas de 10, 15, 20, 25, 30 e 35°C ; UR: $70\pm 10\%$ e fotofase: 14 horas	54

20	Porcentagem de parasitismo de <i>Trichogramma atopovirilia</i> durante 5 horas em ovos de <i>Ecdytolopha aurantiana</i> . A- Parasitismo médio durante 5 horas; B- Parasitismo nas temperaturas de 10, 15, 20, 25 30 e 35°C. Médias seguidas de mesma letra, nas barras, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$)	56
21	Parasitismo médio diário de <i>Trichogramma atopovirilia</i> , alimentados com mel puro, em ovos de <i>Ecdytolopha aurantiana</i> . Temperatura: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 14 horas.....	59
22	Influência da idade do ovo no parasitismo por <i>Trichogramma atopovirilia</i> em ovos de <i>Ecdytolopha aurantiana</i> . A- Teste de confinamento; B- Teste de livre escolha. Período de parasitismo: 24 horas. Temperatura: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 14 horas. Médias seguidas de mesma letra, nas barras, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).....	61
23	Porcentagem de parasitismo de adultos de <i>Trichogramma atopovirilia</i> marcados com ^{32}P sobre ovos de <i>Ecdytolopha aurantiana</i> , bem como de adultos de F_1 , em relação à testemunha (sem marcação). Período de parasitismo: 24 horas. Temperatura: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 14 horas. Médias seguidas de mesma letra, nas barras, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).....	64
24	Características da emergência do parasitóide <i>Trichogramma atopovirilia</i> em ovos de <i>Ecdytolopha aurantiana</i> . A e B- Ovo de <i>E. aurantiana</i> contendo um indivíduo de <i>T. atopovirilia</i> (50x e 66x); C- Presença de dois indivíduos de <i>T. atopovirilia</i> por ovo de <i>E. aurantiana</i> (100x); D- Ovo com um orifício no córion após a emergência de um parasitóide; E- Ovo com dois orifícios após a emergência.....	65
25	Danos (%) causados por <i>Ecdytolopha aurantiana</i> após liberações de <i>Trichogramma atopovirilia</i> em diferentes proporções (<i>T. atopovirilia</i> :ovo da praga) durante os meses de abril a junho. Fazenda Entre Rios, Gavião Peixoto, SP	68

26 Porcentagem média de parasitismo após liberações de <i>Trichogramma atopovirilia</i> para o controle de <i>Ecdytolopha aurantiana</i> durante os meses de julho e setembro, com infestações artificiais da praga. Fazenda Nossa Senhora da Paz, Pirassununga, SP.....	71
27 Regressão linear da porcentagem média de parasitismo e proporções de <i>Trichogramma atopovirilia</i> liberados para o controle de <i>Ecdytolopha aurantiana</i> , durante os meses de julho e setembro, com infestações artificiais da praga. Fazenda Nossa Senhora da Paz, Pirassununga, SP.....	72
28 Ovo de <i>Ecdytolopha aurantiana</i> . A- Vista da cima (50x); B e C- Microestrutura do córion na região central (200x); D- Periferia do ovo com estruturas interligadas contendo aerópilas (210x); E- Áreas deprimidas de formato poligonal com aerópilas (210x); F e G- Aerópilas (210x). As setas mostram as aerópilas	73
29 Relação entre a distância de liberação de <i>Trichogramma atopovirilia</i> e porcentagem de parasitismo em ovos de <i>Ecdytolopha aurantiana</i> a diferentes distâncias. Fazenda Nossa Senhora da Paz, Pirassununga, SP	76
30 Relação entre a distância de liberação de <i>Trichogramma atopovirilia</i> e porcentagem de parasitismo em ovos de <i>Ecdytolopha aurantiana</i> durante 5 semanas. A- Semana 1; B- Semana 2; C- Semana 3; D- Semana 4; E- Semana 5. Fazenda Nossa Senhora da Paz, Pirassununga, SP	78

**CONTROLE BIOLÓGICO DE *Ecdytolopha aurantiana*
(Lima, 1927) (LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE) COM
Trichogramma atopovirilia Oatman & Platner, 1983**

Autora: MARIUXI LORENA GÓMEZ TORRES

Orientador: Prof. Dr. JOSÉ ROBERTO POSTALI PARRA

RESUMO

Baseando-se em estudos de seleção de linhagens, comportamento, liberação e avaliação de parasitismo, incluindo-se técnicas de marcação com radioisótopos ^{32}P , objetivou-se, nesta pesquisa, verificar em laboratório e no campo, a espécie de *Trichogramma* mais eficiente para o controle de *Ecdytolopha aurantiana* (Lima, 1927). Assim, verificou-se em laboratório que *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983, quando comparada com *T. pretiosum* Riley, 1879, foi a espécie com maior potencial para o controle desta praga. Foi observado que *T. atopovirilia* apresentou um maior parasitismo na faixa de 20 a 30°C quando comparado às temperaturas de 10, 15 e 35°C, sendo que nesta faixa (15 a 35°C) o parasitismo aumentou a partir de 2 horas de exposição. Houve aumento no parasitismo e na longevidade dos parasitóides, quando foi oferecida uma fonte de alimento (mel puro) aos adultos, logo após a emergência.

O parasitismo foi também superior nos ovos mais novos, especialmente, aqueles com 24 horas de desenvolvimento embrionário, comparados aos de 48 e 72 horas, respectivamente, o que pode auxiliar na definição do momento de liberação dos parasitóides no campo. A dosagem do radioisótopo ^{32}P , utilizada para a marcação de espécimens de *Trichogramma* não interferiu na aceitação e parasitismo de ovos de *E. aurantiana* e no desenvolvimento dos parasitóides na geração subsequente. Em condições de campo, o número de parasitóides a serem liberados foi variável dependendo da época do ano. Assim, foram necessários 72 e 288 parasitóides por ovo, nos períodos de abril a junho e de julho a setembro, respectivamente. O grande número de aerópilas presente nos ovos de *E. aurantiana* facilita o seu ressecamento quando mantidos em substratos artificiais, afetando o comportamento do parasitóide e a sua capacidade de parasitismo em campo. O raio de dispersão e a eficiência de parasitismo em função da distância percorrida por *T. atopovirilia* foram determinados usando-se o marcador ^{32}P na dosagem determinada. Houve diminuição do parasitismo com o aumento da distância do ponto inicial de liberação dos parasitóides. Observou-se, que nas primeiras 24 horas, as maiores taxas de parasitismo de *T. atopovirilia* ocorreram entre 8 e 10 m do ponto central de liberação, correspondendo a uma área de 171 m² de dispersão para os pomares cítricos. Baseando-se nestes resultados, serão necessários 60 pontos de liberação por unidade de área (ha), para viabilizar o uso de *T. atopovirilia* como uma estratégia de controle biológico de *E. aurantiana*.

BIOLOGICAL CONTROL OF *Ecdytolopha aurantiana*
(Lima, 1927) (LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE) WITH
***Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983**

Author: MARIUXI LORENA GÓMEZ TORRES

Adviser: Prof. Dr. JOSÉ ROBERTO POSTALI PARRA

SUMMARY

Based on strain selection, behavior, release and parasitism evaluation studies including ^{32}P radioisotope marking, one aimed at verifying in laboratory and field the more efficient *Trichogramma* species to control *Ecdytolopha aurantiana* (Lima, 1927). Thus, the comparison between *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 and *T. pretiosum* Riley, 1879 in laboratory indicated the first one as the species with higher potential to control the pest. The parasitism in *T. atopovirilia* was observed to be higher in the 20-30°C range in comparison with temperatures of 10, 15 and 35°C, and at the studied range (15 to 35°C), the parasitism increased starting in 2 hours of exposure. Parasitism and parasitoid longevity increased when a food source (pure honey) was

offered to adults right after emergence. The parasitism was also higher in newer eggs, especially those with 24 hours of embryonic development, compared to those of 48 and 72 hours, respectively, which can help define the moment of parasitoid release in the field. The ^{32}P radioisotope dosage used to mark *Trichogramma* specimens did not interfere in the acceptance and parasitism of *E. aurantiana* eggs and in the parasitoid development in the following generation. Under field conditions, the number of parasitoids to be released was variable, depending on the time of the year. Thus, 72 and 288 parasitoids were required per egg in the periods of April-June and July-September, respectively. The large number of aeropiles found in *E. aurantiana* eggs makes them dry out more easily when kept in artificial mediums, affecting the parasitoid behavior and its parasitism capacity in the field. The dispersion range and parasitism efficiency in function of the distance run by *T. atropovirilia* were determined through the ^{32}P marker at the given dosage. Parasitism decreased as the distance from the initial point of parasitoid release increased. In the first 24 hours the higher *T. atropovirilia* parasitism rates were observed to occur between 8 and 10 m from the central release point, corresponding to an area of 171 m² of dispersion towards the citrus groves. Based on these results, 60 release points will be necessary per area unit (ha) to make the use of *T. atropovirilia* viable as a biological control strategy for *E. aurantiana*.

1 INTRODUÇÃO

Dentre as regiões de clima tropical e sub-tropical do mundo que possuem os pomares de citros mais produtivos, por terem uma citricultura estruturada, destacam-se o Brasil, EUA, México, China e África do Sul; as principais regiões produtoras do mundo são a Flórida, nos EUA e São Paulo no Brasil, sendo que São Paulo, cuja maior parte da produção destina-se à indústria do suco, é responsável por 70% de laranja “*in natura*” e 98% do suco que o Brasil produz (Abecitrus 2003).

A produção citrícola de aproximadamente 320 municípios paulistas é constantemente ameaçada pelo ataque de pragas e doenças exigindo altos custos de manejo (detecção e monitoramento, assim como uso de grandes quantidades de agroquímicos) utilizado para seu controle e que elevaram os custos de produção para US\$ 1,82/caixa, como média dos últimos cinco anos, frente ao preço médio que recebem os citricultores, de US\$ 2,04/caixa (Agrianual 2004).

O bicho-furão-dos-citros, *Ecdytolopha aurantiana* (Lima, 1927), de ocorrência em áreas neotropicais, não se constituía em problema para a citricultura (Prates & Pinto 1991) até o final da década de 70; entretanto, no final da década de 80 assumiu o “status” de praga chave (Garcia 1998, Bento et al. 2001a), provavelmente devido a desequilíbrios biológicos, chegando a causar perdas de mais de 50 milhões de dólares anuais para a citricultura paulista (Fundecitrus 2000).

Conhece-se pouco sobre seus inimigos naturais, provavelmente por haver se tornado praga nos últimos 10 -15 anos. Assim, apenas nos últimos anos vêm sendo desenvolvidas pesquisas que permitiram conhecer a sua bioecologia (Garcia 1998), comportamento (Bento et al. 2001a, b), técnicas de monitoramento da praga

(Carvalho 2003), possibilitando iniciarem-se os estudos de controle biológico, incluindo-se a seleção de linhagens de *Trichogramma* spp. para seu controle (Molina 2003).

A síntese do feromônio sexual do bicho-furão e a sua utilização para monitoramento (Leal et al. 2001), levaram a uma redução significativa do número de aplicações de agroquímicos em locais onde não havia risco de dano econômico, diminuindo assim os custos de produção. Portanto, a utilização de agroquímicos como organofosforados, carbamatos, piretróides, reguladores de crescimento e o produto biológico *Bacillus thuringiensis* (Wilper, 1961) deve ser feita a partir do nível de 6 machos/armadilha/semana/10ha. Paralelamente, a catação e destruição dos frutos infestados para interromper o ciclo de vida do inseto, representam importantes medidas auxiliares no controle desta praga (Fundecitrus 2003).

Segundo Li (1994) e Kuske et al. (2003) os insetos da família Trichogrammatidae são importantes agentes de controle biológico, utilizados há mais de 70 anos como parasitóides de ovos de uma variada gama de pragas agrícolas e florestais, pertencentes às ordens Lepidoptera, Diptera, Coleoptera, Hymenoptera, Neuroptera e Megaloptera. Nos últimos 20 anos, o uso em grande escala destes parasitóides tem sido considerável para o controle de pragas em milho, arroz, trigo, sorgo, cana-de-açúcar, beterraba, algodão, soja, maçã, citros, ameixa, abacate, videira, entre outros (Li 1994).

Casos de sucesso e/ou insucesso de liberações inundativas de *Trichogramma* para o controle de lepidópteros-pragas são referidos por diversos autores. É difícil definir com precisão os fatores intrínsecos e extrínsecos determinantes dos casos de insucesso; vários aspectos podem ser mencionados incluindo a inadequada seleção de linhagens, “qualidade” do parasitóide criado em laboratório, características do transporte e manipulação, técnicas e intervalo de liberações, densidade liberada (parasitóides:ovos da praga), além das condições climáticas no momento da liberação, dispersão do parasitóide e uso de agroquímicos dentro da cultura; todos estes fatores podem ser responsáveis pelo insucesso de um programa de controle biológico (Fuentes 1994, Glenn & Hoffmann 1997, Hassan 1997).

A potencialidade de *Trichogramma* para controlar *E. aurantiana* foi relatada por Garcia (1998), desde que haja uma adequada seleção de linhagens, com a liberação de um número adequado de parasitóides por unidade de área (Molina 2003).

Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar em laboratório e campo, através de estudos de seleção de linhagens, de comportamento, de técnicas de marcação, de liberação e avaliação do parasitismo, a espécie de *Trichogramma* mais promissora para ser utilizada como um componente de manejo dentro das táticas de controle de *E. aurantiana*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Taxonomia e distribuição geográfica de *Ecdytolopha aurantiana* (Lima, 1927)

Este microlepidóptero foi encontrado pela primeira vez e identificado como *Tortrix citriana* Fernald em 1915, pelo entomologista Gregório Bondar. Em 1927 foi descrito por Costa Lima como *Gymnandrosoma aurantianum*, pertencente à família Olethreutidae; em 1945, o próprio Costa Lima colocou-o na família Grapholitidae; em 1995, foi transferido por Powel para a família Tortricidae, com o nome de *Ecdytolopha aurantiana* (Lima 1927, 1945; Powel et al. 1995).

Esta espécie é conhecida comumente como bicho-furão, bicho-furão-dos-citros, mariposa-dos-laranjais, mariposa-das-laranjas (Prates et al. 1981; Prates & Pinto 1988; Nakano & Leite 1998). Os adultos apresentam asas com uma envergadura de 17 mm (Fonseca 1934), de coloração marrom acizentada; as asas das fêmeas são mais escuras do que as dos machos, tendo uma mancha característica marrom clara, em volta da margem externa (Prates & Pinto 1988).

Segundo Zucchi et al. (1993), esta espécie ocorre em toda América do Sul e no Brasil, Prates & Pinto (1988, 1991) e Prates et al. (1995) relataram a sua ocorrência nos estados de Amazonas, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Goiás, Pará, Mato Grosso, Santa Catarina e São Paulo (presente em 54 municípios das principais regiões citrícolas).

Entre os hospedeiros do inseto são citados citros, goiaba, lichia, manga, macadâmia e, provavelmente, a fruta-do-conde (Zucchi et al. 1993; Nakano & Soares 1995); em Trinidad – Tobago e Dominica foi relatado por White (1993) atacando citros, lichia, banana e cacau e na Costa Rica, danificando frutos de macadâmia.

2.2. Bioecologia e comportamento

O hábito de postura de *E. aurantiana* é crepuscular e as fêmeas desta espécie usualmente colocam cerca de 150 a 200 ovos, com um período de incubação de três a cinco dias, colocando, em geral, apenas um ovo sobre a superfície dos frutos e ocasionalmente sobre as folhas, sendo os ovos achatados e transparentes (Pinto 1994, 1995; Nakano & Soares 1995; Garcia 1998, Garcia & Parra 1999). Depois de completar o desenvolvimento embrionário, eclode a lagarta que perfura a casca e penetra no interior do fruto, alimentando-se da polpa, sendo a duração do período larval de aproximadamente 20 dias. Ao sair do fruto, a lagarta tece um fio de seda, para descer ao solo ou na base da planta para se transformar em pupa, protegida por um casulo confeccionado de teia, fragmentos de solo e restos vegetais; a duração da fase pupal é de 12 a 20 dias (Lima 1927; Schultz 1939; White 1993; Garcia 1998).

De acordo com Garcia (1998) a duração do ciclo de vida de *E. aurantiana* é de 32 a 35 dias com 5 ínstaes quando se desenvolve em frutos e apenas 4 quando é criado em dieta artificial. Este mesmo autor verificou que o inseto é muito sensível às baixas umidades relativas do ar, diminuindo a longevidade e capacidade de postura com o decréscimo da UR. Segundo Carvalho (2003), solos encharcados ou muitos secos afetam as pupas e diminuem a porcentagem de emergência.

Segundo Bento et al. (2001a) o pequeno tamanho do inseto, a coloração escura, que permite a sua mimetização e o hábito dos adultos permanecerem imóveis durante boa parte do dia, são os fatores que impedem que a mariposa seja observada pelo agricultor no campo. Durante o dia, como tática de busca de refúgio e proteção às altas temperaturas e baixas UR, as mariposas permanecem preferencialmente no terço inferior e médio da copa dos arvóres, na grande parte do tempo sobre as folhas.

Bento et al. (2001a, b) observaram que entre as 18:00 e 19:00 horas, uma grande porcentagem de fêmeas virgens e machos se movimentam para o terço superior das árvores, onde ocorrem as cópulas, aproximadamente uma hora depois ao entardecer (19:00 e 20:00 h); o número de indivíduos e a movimentação decresce após as 20:00 h;

80% dos acasalamentos de *E. aurantiana* ocorrem no terceiro ou quarto dias de vida do adulto.

Garcia (1998) observou que, em campo, os ovos são colocados em frutos localizados entre 1 a 2 m de altura, com posturas realizadas logo após o entardecer.

2.3 Danos e importância econômica

Por alguns anos se pensou, que a ocorrência de *E. aurantiana* no estado de São Paulo era preferencialmente, a partir de novembro, com os picos populacionais em fevereiro e março (Prates & Pinto 1992); mais com estudos recentes (Fundecitrus 2004) pôde-se constatar que o bicho-furão ocorre durante todo o ano, e com menor incidência quando há poucos frutos no pomar.

Em altas populações, a praga ataca indistintamente frutos verdes e maduros; como já referido, a grande porcentagem de frutos atacados situa-se entre um e dois metros de altura e, a maioria, do lado externo de planta, sendo a ocorrência menor na parte central da planta, pela possível presença de patógenos, favorecidos pelas condições climáticas mais úmidas e que desfavorecem o desenvolvimento de *E. aurantiana* (Garcia 1998).

O sintoma do ataque nos frutos pode ser confundido com aquele ocasionado pelas moscas-das-frutas (Prates & Pinto 1991; Pinto 1995); a principal diferença entre o ataque do bicho-furão é que no orifício de penetração da lagarta aparecem os excrementos, que ficam presos, secos e duros nesse local; neste local podem ocorrer infecções secundárias causadas por fungos, bactérias e ataque de outros insetos, sendo visível, ao redor do orifício, uma área necrótica normalmente deprimida. No caso de ataque de moscas-das-frutas, o local fica mole e apodrecido, e pelo orifício central, sai um líquido quando espremido; no fruto atacado pelo bicho furão, o local torna-se endurecido (Fundecitrus 2003).

Os frutos atingidos pela praga adquirem características como coloração amarela clara, amadurecendo prematuramente até finalmente cair; as laranjas maduras que são perfuradas pelas lagartas do primeiro ínstar e que não caem tornam-se de coloração

distinta dos frutos sadios. Quando os frutos verdes e mais ácidos são atacados pelo bicho-furão, há um alongamento do período larval com mortalidade alta (White 1993; Garcia 1998; Parra et al. 2001).

Os prejuízos ocasionados por *E. aurantiana* são grandes na citricultura, pois os frutos atacados tornam-se imprestáveis para a indústria e consumo “in natura” (Redfern Jr. & Di Giácomo 1991; Nakano & Leite 1998).

Desde o final da década de 80, *E. aurantiana* é uma das mais importantes pragas na América Latina e em Trinidad-Tobago chega a destruir 40% dos frutos (White 1993); no Brasil, segundo Prates et al (1995), chega a comprometer até 1,5 caixas de frutos por planta. Estimam-se perdas anuais de aproximadamente 50 milhões de dólares/ano (Fundecitrus 2000).

2.4 Controle de *E. aurantiana* em pomares cítricos

As táticas de controle do *E. aurantiana* se baseiam na utilização de produtos químicos, biológicos e reguladores de crescimento, em pulverizações realizadas ao entardecer, aproveitando, desta forma, a diminuição da luminosidade, a queda de temperatura e o aumento da umidade que, associados, desencadeiam os eventos fisiológicos que levam ao acasalamento e postura da praga. Neste horário, os insetos estariam mais expostos à ação dos agroquímicos (Bento et al. 2001a; Fundecitrus 2003). O fato de ser um inseto cuja fase imatura se desenvolve dentro do fruto transforma-se em uma dificuldade para seu controle, pois ao penetrar no fruto ele fica abrigado, protegido contra os produtos utilizados para controle.

A metodologia de amostragem de adultos mediante a utilização de armadilhas contendo o feromônio sexual, desenvolvido por Bento et al. (2001a), permite definir o melhor momento das aplicações de produtos para controle. As pulverizações são feitas quando forem encontrados mais de 6 machos por armadilha/semana (Fundecitrus 2003), tornando os métodos de controle mais racionais e eficientes.

2.4.1 Controle químico

Os inseticidas utilizados para controlar os focos iniciais do bicho-furão nos pomares cítricos, são os organofosforados (triclorfon, carbaryl e pyridafenthion), piretróides (fenpropathrin, bifenthrin, deltamethrin) e carbamatos. A aplicação indiscriminada de tais produtos pode acarretar desequilíbrios biológicos e surgimento de outras pragas (Pinto 1995; Pazini & Busoli 1997; Fundecitrus 2003).

Segundo Carvalho (2003), o piretróide bifentrine associado ao diflubenzuron e óleo, foi eficiente no controle de adultos de *E. aurantiana*, havendo, aparentemente um efeito sinérgico do óleo e bifentrine.

2.4.2 Controle biológico

Segundo Garcia (1998) o braconídeo, *Hymenochaonia delicata* (Cresson, 1872), parasitóide larval de *E. aurantiana*, pode ser importante no Brasil na manutenção do nível de equilíbrio desta praga, devido à ocorrência de altas populações do parasitóide em determinadas épocas do ano.

Hassan (1997) citou alguns países que utilizam *Trichogramma* spp. para o controle de pragas em frutíferas, incluindo Peru e África do Sul, onde se utilizam estes parasitóides com sucesso em pomares cítricos. Assim Newton & Odendaal (1990) liberaram 80.000 indivíduos da espécie *Trichogrammatoidea cryptophlebiae* Nagaraja, semanalmente, durante 29 e 33 semanas, em duas safras para controlar o tortricídeo *Cryptophlebia leucotreta* (Meyrick, 1913) em citros; houve uma redução de 54 e 60% na população larval na duas safras, com uma diminuição do percentual de dano de 49,4 e 61,1%, respectivamente. Os resultados obtidos por Molina (2003) demonstram o potencial de controle de *E. aurantiana* através das espécies/linhagens de *Trichogramma*, confirmando os resultados obtidos anteriormente por Garcia (1998).

2.4.3 Controle Microbiano

O controle microbiano vem sendo realizado por meio de pulverizações em cobertura, com formulações à base de *Bacillus thuringiensis* (Wilper, 1961); as primeiras aplicações devem ser feitas 7 dias após a coleta de 6 adultos/armadilha, pois considerando-se o período de pré-oviposição (2 dias) e o período de desenvolvimento embrionário (5 dias) do bicho-furão, quando forem feitas as primeiras aplicações, seriam atingidas as lagartas pequenas, antes de entrarem no fruto.

Foi avaliada a utilização de nematóides entomopatogênicos dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditidae*, que mostraram-se eficientes, mesmo em dosagens baixas, quando testados “*in vitro*”; constituem-se, portanto, em potenciais agentes de controle biológico da praga (Garcia 1998; Tavares et al. 2003).

2.4.4 Controle cultural

Além dos métodos de controle já mencionados, objetivando interromper o ciclo de vida do inseto, recomenda-se a catação e destruição dos frutos atacados; é importante coletar os frutos que caem no chão além de retirar aqueles que estão atacados mas que permaneceram nas árvores. Para complementar este processo, os frutos danificados podem ser triturados ou enterrados no meio das ruas do pomar, sob uma camada de, pelo menos 30 centímetros, para evitar que as lagartas sobrevivam e voltem à superfície, reiniciando o ciclo biológico (Pinto 1996; Fundecitrus 2003).

2.5 Biologia de espécies de *Trichogramma*

As espécies de Trichogrammatidae são de tamanho pequeno, com cerca de 0,2 a 1,5 mm, são solitárias ou gregárias, endoparasitóides primários de ovos de insetos (Pinto 1997). As espécies do gênero *Trichogramma* são holometabólicas,

seu desenvolvimento embrionário e larval ocorrem no interior do ovo de outros insetos e como todos os parasitóides de ovos são apnêusticos, sendo as exigências de oxigênio, durante a fase larval, muito baixas (De la Torre 1993). O desenvolvimento pré-pupal caracteriza-se pela presença de sais de urato que, no início, encontram-se dispersos no tegumento e com o passar do tempo concentram-se na região central do abdômen da pupa, tornando-a de coloração escura, o que caracteriza os ovos parasitados (Cônsoli et al. 1999).

O acasalamento não é obrigatório e o modo de reprodução mais comum em *Trichogramma* é arrenotoquia, onde ovos fertilizados produzem fêmeas diplóides e ovos não fertilizados produzem machos haplóides; existem ainda as formas telítocas reversíveis associadas a infecções microbianas que não são reversíveis (Stouthamer et al. 1990).

Segundo Vinson (1997) e Gomes (1997) o número de ovos colocados pelo parasitóide é variável dependendo da quantidade de nutrientes que os ovos contêm e em função do volume do ovo do hospedeiro, sendo este um fator importante na seleção hospedeira.

O desenvolvimento de *Trichogramma* é bastante influenciado por fatores abióticos como temperatura, umidade e luz; a temperatura é o fator de maior importância, podendo afetar, entre outros parâmetros, a duração do desenvolvimento, a razão sexual, o parasitismo e a longevidade dos adultos (Calvin et al. 1984; Yu et al. 1984a; Bleicher 1985; Stein & Parra 1987a; Cônsoli & Parra 1996; Pratissoli & Parra 2000, 2001; Molina 2003)

Segundo Zucchi & Monteiro (1997) os insetos hospedeiros de *Trichogramma* estão associados a 28 espécies de plantas, das quais 80% são de importância econômica, sendo que a maioria dos levantamentos destes parasitóides no Brasil tem sido realizada em culturas de importância econômica como cana-de-açúcar, algodoeiro, tomateiro, eucalipto, etc.

2.6 Uso de *Trichogramma* em programas de controle biológico

As liberações de espécies de *Trichogramma* para o controle biológico de pragas pertencentes à ordem Lepidoptera são realizadas há mais de 100 anos, embora intensificadas com o trabalho de Flanders na década de 30 do século passado, após a demonstração da possibilidade de utilização de ovos de *Sitotroga cerealella* (Oliver, 1789), como hospedeiro alternativo para a multiplicação do parasitóide, facilitando assim a criação em grande escala (Smith 1996).

A maioria das liberações de *Trichogramma* foram realizadas nos últimos 30 anos; os programas anteriores a 1975 foram dirigidos ao controle de lepidópteros em cana de açúcar e milho. Entre 1975 e 1985 pragas de algodão, beterraba, videira, abacate, ameixa, maçã, tomate, arroz, pinheiro, mostraram ser passíveis de controle com este inimigo natural, prática que passou a ser comum nas décadas seguintes. Na atualidade, liberações inundativas do parasitóide para o controle de pragas têm sido pesquisadas em mais de 50 países e nos últimos anos têm sido utilizadas em aproximadamente 32 milhões de hectares, anualmente. Na Rússia, China, Colômbia, EUA, Índia, Alemanha, Suíça e Filipinas criam-se de forma massal cerca de 20 espécies (incluindo, espécies do gênero *Trichogrammatoidea*) (Hassan et al. 1988; Hassan 1993, 1994, 1997).

No Brasil, a utilização de *Trichogramma* spp. é pequena se comparado com outros países (Parra et al. 2002); o caso mais relevante de controle biológico aplicado com a utilização deste parasitóide, refere-se ao uso de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 para o controle da traça do tomateiro, *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917), importado da Colômbia e depois criado em ovos de *S. cerealella* pela Embrapa Semi-Árido em Petrolina (Haji et al. 2002). Recentemente, estas liberações têm sido freqüentes em milho para o controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) e de *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) em crucíferas (Parra & Zucchi 2004).

A escolha de pesticidas seletivos que controlem as pragas sem causar efeitos negativos sobre os organismos benéficos, é um fator decisivo, podendo limitar a utilização de *Trichogramma*. Assim, são necessários testes padronizados de seletividade com base nas normas da IOBC (International Organization of Biological Control); para

se ter sucesso nas liberações. Alguns estudos compararam a relativa toxicidade de pesticidas, incluindo inseticidas, fungicidas e herbicidas com vista à indicação dos produtos mais seletivos em casos de liberação dos parasitóides (Hassan et al 1988; Li et al. 1993, Degrande et al 2002, Foerster 2002).

2.7 Controle de pragas em frutíferas com espécies de *Trichogramma*

Segundo Hassan (1997) é crescente o número de programas de liberações inundativas com espécies de *T. pretiosum*, *Trichogramma evanescens* Westwood, 1833, *Trichogramma dendrolimi* Matsumura, 1925, *Trichogramma brassicae* Bezdenko, 1968, *Trichogramma ostrinae* Pang et Chen, 1974, *Trichogramma chilonis* Ishii, 1941, *Trichogramma exiguum* Pinto & Platner, 1978, *Trichogramma euproctidis* (Girault, 1911), para o controle de pragas chaves, pertencentes às famílias Pyralidae, Tortricidae, Noctuidae, Olethreutidae e Pieridae, em países como Bulgária (uva, maçã, ameixa), França (uva, castanha), Alemanha (maçã), Honduras (banana), Irã (romã), Itália (uva), Malásia (cacau), Peru (laranja, maçã, azeitona) e África do Sul (citros).

Glenn & Hoffmann (1997) avaliaram o potencial de quatro linhagens de *Trichogramma carverae* (Oatman & Pinto, 1987) coletados de ovos de *Epiphyas postvittana* (Walker, 1863) praga de videira na Austrália. Com 30 liberações inundativas de 70.000 parasitóides/ha, obtiveram 75% de controle da praga.

O parasitismo natural de *T. chilonis* chegou a 75,9% em viveiros e pomares de citros na Índia; Krishnamoorthy & Singh (1986) observaram esta espécie parasitando ovos de *Papilio demoleus* Linnaeus, 1758 e *Papilio polytes* Linnaeus, 1758.

Em cinco pomares cítricos de África do Sul, visando ao controle de *C. leucotreta* Newton & Odendaal (1990) fizeram liberações de 2,3 e 3,8 milhões de *T. cryptophlebiae* por hectare em duas safras sucessivas; obtiveram para cada safra uma redução da população da fase larval de 54 e 60%, com uma redução na percentagem de danos de 49,4% e 61,1% respectivamente; estes resultados foram semelhantes àqueles obtidos

com um regulador de crescimento aplicado em pulverização. Além do controle, o custo do parasitóide foi 30% inferior ao do regulador de crescimento.

Yu et al. (1984b) verificaram a dispersão e parasitismo de *Trichogramma minutum* Riley, 1879 e *T. pretiosum*; em pomares de macieira no Canadá visando ao controle de *Cydia pomonella* (Linnaeus, 1758). Observaram que o parasitismo de *T. minutum* foi elevado em árvores localizadas na direção do vento em relação ao ponto de liberação. A dispersão vertical e horizontal de *T. pretiosum* dentro de uma planta, foi igual em todos os sentidos, não sendo afetada pela direção do vento. Entretanto, a dispersão de *T. minutum* na parte inferior da planta, sofreu tal influência. Também observaram que chuvas e baixas temperaturas reduziram o parasitismo de *T. minutum* em ovos de *C. pomonella*.

McDougall & Mills (1997) testaram a espécie *Trichogramma platneri* Nagarkatti, 1975; para o controle de *C. pomonella* em pomares de maçã na Califórnia, EUA. O parasitismo, após liberações massais, foi crescente nos três primeiros dias, aumentando de 18% para 36%.

Portanto, fatores como a seleção de espécies/linhagens de *Trichogramma* liberados, a densidade do hospedeiro, o número de liberações, o estágio de desenvolvimento do parasitóide liberado, assim como temperatura e precipitação pluviométrica interferem nos resultados das liberações.

Mills (2001) também avaliou o efeito de liberações inundativas de *T. platneri* para o controle de *C. pomonella* em pomares de maçã e nozes no oeste dos EUA, na Califórnia, demonstrando que os danos provocados pela praga foram reduzidos em 60%.

Oatman & Platner (1985) avaliaram a eficiência de *T. platneri* no controle de *Sabulodes aegrotata* (Guenée, 1857) e *Amorbia cuneana* Walsingham, 1879; pragas do abacateiro na Califórnia, EUA. Foram feitas liberações de 200.000 parasitóides por acre; para atingir um parasitismo de 51,8 a 70,8% para *A. cuneana* foram necessárias três liberações semanais. No caso de *S. aegrotata*, foi verificada a ocorrência de 15,7 a 69,1% de parasitismo natural por *T. platneri*, sendo então necessárias só duas liberações semanais, o que permitiu alcançar um parasitismo de 80% após as liberações. Houve redução de danos para ambas pragas, após tais liberações.

2.8 Seleção de espécies de *Trichogramma* para as liberações

Segundo Pinto & Stouthamer (1994) a seleção das espécies/linhagens a serem liberadas é um processo difícil, onde devem ser consideradas as variações intraespecíficas de mais de 145 espécies conhecidas e a taxonomia que é realmente pouco conhecida; estes pontos, segundo os autores, são de grande importância para o sucesso de um programa de controle biológico.

As espécies nativas são as mais recomendadas para seleção e liberações massais, pois estas estão melhor adaptadas às variações climáticas, habitat, preferência pelos hospedeiros, reconhecimento, assim como aceitação da cultura (Hassan 1989; 1994).

Segundo Vinson (1997) um ponto fundamental no processo de seleção hospedeira é a capacidade das fêmeas selecionarem hospedeiros adequados ao desenvolvimento da prole.

Hassan (1989) avaliou 17 linhagens de *Trichogramma*, com o método de contato e parasitismo, para o controle de *C. pomonella*, *Adoxophyes orana* Fisher & Röslerstamm, 1834 e *Pandemis heparana* (Denis & Schiffermüller, 1775), tendo como hospedeiro alternativo (padrão), *S. cerealella*. Observou que a linhagem de *T. dendrolimi*, proveniente da China, apresentou maior fecundidade para os três hospedeiros. Além disso, verificou que uma linhagem de *Trichogramma embryophagum* (Hartig, 1938), em experimentos de múltipla escolha, mostrou nítida preferência por *C. pomonella* e *A. orana* quando comparadas com o hospedeiro padrão, considerando-as, portanto, como as mais adequadas para o controle dessas pragas. Para que o controle biológico tenha condições de competir com o controle químico é essencial que sejam selecionados parasitóides altamente eficientes, com linhagens bastante agressivas (Hassan 1994; 1997).

Li et al. (1994) testaram quatro espécies/linhagens de *Trichogramma* para o controle de *Rhopobota naevana* (Hübner, 1817), praga de *Vaccinium macrocarpon*, isolando fêmeas de cada parasitóide, em placas de Petri contendo ovos do hospedeiro natural. Avaliaram a aceitação do hospedeiro pelo número de ovos examinados e

parasitados. A espécie nativa, *Trichogramma sibericum* Sorokina, 1981, foi mais efetiva no controle de *R. naevana* do que as espécies comerciais, *T. evanescens* e *T. minutum*.

Molina (2003) estudou a duração do período ovo-adulto de treze linhagens/espécies de *Trichogramma* em ovos de *E. aurantiana*, observando variações de 10,2 a 11,9 dias. Neste estudo, *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, apresentou maior capacidade de parasitismo (número médio de ovos parasitados e porcentagem de parasitismo), observando-se uma média de 23,3 ovos parasitados e 77,5% de parasitismo em 24 horas. A autora relatou que a porcentagem de emergência das linhagens/espécies de *Trichogramma* criadas sobre ovos de *E. aurantiana*, a 25°C, foi inferior àquela relatada em outros trabalhos, possivelmente pela dificuldade de se manter a umidade no interior dos tubos de criação, havendo em muitos casos, ressecamento dos ovos.

2.9 Estratégias de liberações em campo

As liberações de *Trichogramma*, nos últimos anos, constituem-se nas maiores contribuições para o controle biológico de lepidópteros pragas. Embora, no geral, liberações inundativas sejam a tática mais comum para *Trichogramma*, eles também são liberados de forma inoculativa. Regiões com climas quentes favorecem as pragas multivoltinas e liberações inoculativas, pois os parasitóides podem se multiplicar ao longo da estação. Liberações inundativas são eficientes em climas tropicais e em climas temperados e frios, tática apropriada para hospedeiros uni ou bivoltinos. Alguns países usam ambas estratégias, ou seja, liberações inoculativas e inundativas (Bigler 1986; Li 1994).

Na China, são feitas pequenas modificações nas táticas de liberações inoculativas; assim, *Trichogramma* é liberado em pequenas culturas de vegetais adjacentes aos cultivos alvos. Os métodos de liberações inoculativas são grandemente aceitos pelos agricultores chineses, dentro de culturas perenes pois esta tática é, para eles, a mais adequada e de mais fácil execução (Li 1994; Smith 1996).

Visando aumentar a eficácia, utilizam-se combinações de espécies de *Trichogramma* para o controle de pragas. A escolha da correta combinação é baseada em testes de laboratório, semicampo e campo. Hassan (1994) encontrou, em experimentos de campo, visando à otimização do uso de *Trichogramma* no controle de *C. pomonella* e *A. orana*, uma combinação adequada, com a mistura de *T. dendrolimi* e *T. embryophagum*. Os resultados foram satisfatórios, pois a eficiência desta tática foi 10% maior de que a liberação de *T. dendrolimi* isolado. Foram feitas três liberações de 2,5 milhões de parasitóides por hectare, para cada caso; com a mistura de espécies, a redução do dano por *C. pomonella* foi de 52,9, 84,3 e 71,4% quando comparado com 42,0, 78,0 e 67,7% respectivamente, nas liberações de *T. dendrolimi* realizadas isoladamente. Os danos de *A. orana* foram reduzidos em 39,2 e 85,4% quando foi utilizada a mistura das espécies de *Trichogramma* mencionadas, em comparação aos 23,5 e 70,7% das liberações de *T. dendrolimi* isoladamente.

As liberações de parasitóides de ovos são realizadas em vários países, sendo que naqueles em que os custos de produção são menores, as técnicas de liberação manuais são utilizadas com mais frequência. Em países mais desenvolvidos, devido ao maior custo de produção dos parasitóides, as técnicas de liberação têm que ser mecanizadas. Desta forma, como as áreas a serem tratadas são cada vez maiores, a tendência, em países desenvolvidos, é substituir liberações terrestres por liberações aéreas, muna tentativa de aumentar o rendimento e reduzir o tempo de liberação (Smith 1994).

Segundo Smith (1994) na maioria dos trabalhos de campo tem se adotado a técnica de liberação do inimigo natural aderido a um substrato de cartolina ou a vários tipos de papéis (encerados, de filtro, etc.). Estes substratos têm sido distribuídos em diversas culturas em pontos de liberação devidamente escolhidos e presos às plantas com barbante, prendedor ou cliques (Newton 1988).

A partir da década de 80, foram desenvolvidas diferentes técnicas para proteger o material parasitado; os recipientes utilizados para isto variam desde modelos artesanais até outros mais elaborados. De um modo geral, os recipientes, são colocados e pendurados em diferentes partes das plantas. Em alguns casos, os recipientes têm sido colocados no solo ou presos em estacas de madeira, ao invés de serem colocados

diretamente nas plantas. Uma fonte alimentar tem sido adicionada para aumentar a longevidade do parasitóide (Kanour & Burbutis 1984; Lopes 1988; Smith 1994).

Segundo Smith (1994), na maioria dos estudos, o material parasitado tem sido distribuído manualmente, em pontos específicos. As técnicas baseadas em liberações em diferentes pontos têm inconvenientes, como a necessidade de uma adequada distribuição dos pontos por toda a área e a distância têm que ser adequada entre os mesmos para que haja dispersão uniforme do parasitóide por todo o local. Por este motivo, vários pesquisadores tentaram desenvolver técnicas para a distribuição do material parasitado através de liberação de adultos ou pupas por toda a área, ao invés de distribuí-los em pontos específicos.

Johnson (1985) testou aplicações aéreas de parasitóides, em florestas. No Canadá, Smith & Wallace (1990) modificaram um equipamento manual, para distribuição de ovos soltos de *S. cerealella*, parasitados por *T. minutum*, em florestas, com o objetivo de simularem uma aplicação aérea; concluíram que esta forma de liberação não afetou a longevidade, razão sexual, fecundidade e emergência do parasitóide, além de proporcionar uma distribuição bastante uniforme.

Pinto (1999) testou diferentes técnicas de liberação de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988; para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794); segundo este autor, a proteção de pupas, para a liberação no campo é importante quando as condições climáticas são adversas ao parasitóide.

2.9.1 Dispersão de *Trichogramma* spp. em campo

Hendricks (1967) avaliou, sob diferentes condições, os efeitos do vento na dispersão de *Trichogramma semifumatum* (Perkins, 1910), 24 horas após a liberação em um campo de algodão, para o controle de *Heliothis* spp. Os resultados obtidos demonstraram a influência do vento na dispersão destes parasitóides, pois após as liberações obteve-se um ótimo estabelecimento da população assim como uma elevada porcentagem de parasitismo.

O comportamento da dispersão de *T. ostriniae*, agente potencial para o controle de *Ostrinia nubilalis* (Hübner, 1796) em milho doce, foi avaliado por Wright et al. (2001). Demonstrou-se que a dispersão do parasitóides foi de 180 m em 6 dias e 230 m em 21 dias; comprovaram ainda que a porcentagem de parasitismo diminuiu à medida que se aumentava a distância do ponto de liberação, indicando assim a importância de uma apropriada distribuição do parasitóide para uma maior eficiência de controle.

Kuske et al. (2003) realizaram estudos de dispersão e de permanência nas áreas adjacentes à cultura de *T. brassicae*, para o controle de *O. nubilalis* em milho, após liberações inundativas durante 3 anos. Foram colocadas armadilhas no campo de milho e na vegetação circundante; com este trabalho, demonstrou-se que o número de parasitóides capturados nas armadilhas foi decrescente acima dos 40m e que a persistência de *T. brassicae* foi mínima alguns dias após as liberações, o que significou que esta espécie não afetou as outras populações nativas e hospedeiros não alvos.

McDougall e Mills (1997) avaliaram, em um pomar de maçã, para o controle de *C. pomonella*, a dispersão de *Trichogramma platneri* (Nagarkatti, 1975) em relação ao tempo e número de parasitóides, distribuindo cartelas com o parasitóide criado no hospedeiro alternativo *S. cerealella*. Quando liberados em pontos centrais (5.400 e 32.200 parasitóides), obteve-se uma porcentagem de parasitismo de 18 e 36% respectivamente; três dias após a liberação no pomar, o parasitismo diminuiu em 50%. Quanto à dispersão o parasitismo decaiu de 62% no ponto de liberação para 10% a 14 m de distância.

2.9.2 Época, frequência e número de parasitóides liberados

Para definir a época de liberação, diferentes métodos de monitoramento, incluindo definição da época de ocorrência, fenologia da planta, armadilhas de feromônio ou luminosas, cartelas contendo ovos, exigências térmicas, etc, são comumente usados para tentar sincronizar as liberações inundativas com a início da oviposição do inseto alvo. O método mais utilizado é baseado nas exigências térmicas da praga, seguido pelo uso de

armadilhas de feromônios, que permitem previsões corretas pelo fato de coletarem os insetos antes da postura (Burbutis & Koepke 1981; Kanour et al. 1984; Bigler 1986; Bigler & Brunetti 1986; Smith & Wallace 1990).

A maioria dos casos de sucesso dos programas de liberações é obtida quando se têm níveis de parasitismo acima do 80% em posturas frescas do hospedeiro. O número de liberações depende do período de ocorrência da praga. Os intervalos entre liberações são variáveis, usualmente entre 5 a 7 dias; estes intervalos freqüentemente são baseados em observações de longevidade dos parasitóides e sobrevivência em campo (Kanour & Burbutis 1984; Hassan et al. 1988; Smith et al. 1990).

A metodologia de liberações e sua freqüência são também muito importantes nas liberações inundativas. Os métodos de liberação podem influenciar o comportamento de espécies de *Trichogramma* e o nível de controle da praga (Keller et al. 1985).

O número de parasitóides a ser liberado também varia consideravelmente, dependendo do nível populacional da praga, cultura e condições climáticas. Podem ser liberadas de 50.000 a alguns milhões por hectare. Vários milhões de parasitóides por hectare são exigidos para o controle de pragas em florestas, frutíferas e nozes. Em algodoeiro, milho e tomate são relatadas quantidades de 200.000 a 600.000 parasitóides/ha.; estas quantidades mencionadas dependem do tipo da cultura e da área cultivada (Hassan et al 1988; Newton 1990).

Segundo Botelho (1997) o conhecimento do número de pontos de liberação por hectare é fundamental para se assegurar uma boa distribuição do parasitóide na área desejada; uma vez conhecido o raio efetivo de ação do parasitóide, pode-se determinar o número ideal de pontos de liberação.

2.9.3 Fatores que afetam as liberações

Parte do processo para desenvolver um programa de controle biológico viável, é determinada pelos fatores que afetam a eficiência em campo dos organismos criados massalmente em condições de laboratório, por varias gerações (Bigler, 1994).

Clima, tipo de cultura, hospedeiros, predação, uso de agroquímicos e qualidade do parasitóide influem na eficiência das liberações e dispersão de *Trichogramma* (Andow & Prokrym 1991). O clima é, provavelmente, o mais importante destes fatores, já que há um complexo de variáveis meteorológicas afetando o desenvolvimento, emergência, sobrevivência, atividade e fecundidade do *Trichogramma*; dentre os fatores com maior influência situam-se a temperatura e a umidade (King et al. 1985a; 1985b).

Segundo Smith (1994) as liberações inundativas podem ser afetadas também pelas espécies e linhagens do gênero *Trichogramma* que estão sendo utilizadas, pela densidade do hospedeiro, número de parasitóides liberados e pelo comportamento do parasitóide.

O tipo de cultura, como um dos componentes da interação tritrófica é o principal fator na procura do hábitat, sendo considerado um importante agente causal de efeitos físicos e químicos sobre *Trichogramma*.

Diferentes níveis de parasitismo podem ser obtidos no mesmo hospedeiro em diferentes culturas; os parasitóides são mais específicos em relação ao hábitat do em relação aos hospedeiros; o parasitismo está relacionado com tamanho, área foliar e arquitetura da planta (Ables et al. 1980; Altieri et al 1982, Andow & Prokrym 1991).

A liberação de *Trichogramma* em substratos desprotegidos, apresenta muitas desvantagens, sendo a predação e adversidades climáticas os fatores que mais contribuem para a redução do parasitismo. Ao longo dos anos, diferentes técnicas têm sido desenvolvidas para evitar que predadores consumam o material parasitado (Smith 1994). Assim, foram utilizados copinhos plásticos para cana-de-açúcar (Lopes 1988), sacos confeccionados de “nylon” (Hassan et al. 1988) e vasos de vidro (Andow & Prokrym 1991); os recipientes de um modo geral, foram presos nas plantas, contendo uma fonte de alimento para aumentar a longevidade dos parasitóides na cultura.

Os agroquímicos também se apresentam como fatores que reduzem significativamente a eficiência de *Trichogramma*. A utilização de produtos seletivos é fundamental nas liberações destes parasitóides. Em geral, estes inimigos naturais são

mais afetados por inseticidas do que por outros agroquímicos, pois eles produzem grande mortalidade de adultos entre 5-10 dias depois do uso de produtos seletivos, durante 15 dias depois da aplicação de químicos de moderada toxicidade e 20-30 dias depois da pulverização com agroquímicos de alta toxicidade (Bull & House 1983; Jacobs et al 1984; Brunner et al 2001).

Um outro fator que pode afetar o sucesso das liberações é a qualidade do parasitóide produzido. Assim, o controle de qualidade na produção massal é uma medida importante a ser considerada, pois irá garantir a qualidade total do inimigo natural para aumentar sua eficiência em campo (Brouchier & Smith 1996; Prezotti & Parra 2002; Prezotti et al 2004).

Segundo Hassan (1993) são necessários sistemas eficientes de criação de *Trichogramma*, para a produção de quantidades adequadas, com qualidade definida para liberação em campo.

2.10 Marcações de insetos com radioisótopos

Quando se planejam experimentos com insetos, por meio de radioisótopos, a avaliação do equipamento e a sua eficiência para detectar a quantidade de radioatividade de alguns tipos de energia são muito importantes (L'Annunziata & Legg, 1984).

Segundo L'Annunziata & Legg (1984) a seleção dos radioisótopos depende de diversas características, incluindo-se (i) *físicas*: tipo de radiação, energia da radiação e a vida média do radioisótopo; (ii) *química*: formulação da substância usada como marcadora; (iii) *fisiológica*: vida biológica média dos isótopos internamente aplicados, aplicação externa dos isótopos e contaminação interna com o comportamento da limpeza do inseto ou pela penetração cuticular ou pela toxicidade da formulação da substância marcadora para os insetos; (iv) *ecológica*: hábitat dos insetos, métodos de detecção e recuperação, ciclo de vida dos insetos, procura de alimento, contaminação do campo, etc.

Segundo a IAEA (1977) (International Atomic Energy Agency) na transferência e acúmulo de radioisótopos dentro dos diferentes ecossistemas, os insetos desempenham um papel muito importante como organismos indicadores. Daí a importância do conhecimento das várias formas pelas quais os radioisótopos são ingeridos e excretados pelos insetos.

Os radioisótopos podem ser introduzidos ao organismo dos insetos por meio das peças bucais e sistema digestivo, através da cutícula, transferidos via espermatozóides ou secreções auxiliares durante a cópula com machos marcados e durante a respiração retal e/ou osmorregulação.

A eliminação destas substâncias se dá por regurgitação (insetos sociais), através da saliva, durante a respiração, transpiração e excreção e pelas fêmeas por meio dos ovos, larvas vivíparas e secreções auxiliares.

Pesquisas sobre a velocidade do transporte de alimentos, no trato alimentar dos insetos, foram desenvolvidas sobre lagartas de *Trichoplusia ni* (Hübner, 1803). Assim, durante 1 minuto foram oferecidos alimentos marcados com ^{32}P , oferecendo-se subsequentemente alimento não marcado. Entre 6-9 minutos após o inseto haver ingerido o alimento marcado, foram eliminadas as primeiras fezes marcadas com o radioisótopo (L'Annunziata & Legg, 1984). Estes autores mencionaram trabalhos desenvolvidos para medir a permeabilidade da cutícula de duas espécies de baratas com $[^{32}\text{P}]\text{Na}_2\text{HPO}_4$ marcadora; outros demonstraram as excelentes possibilidades que oferecem as marcações com radioisótopos para se conhecerem as relações entre ectoparasitos vetores e seus hospedeiros e também as vantagens destas técnicas em estudos de ecologia.

Fernandes et al. (1997) utilizaram rubídio para marcar o parasitóide *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson, 1880), agente de controle biológico do pulgão-das-gramíneas, visando a determinação da dispersão desse inseto em sorgo granífero. Os pulgões foram marcados por meio da pulverização de colônias em plântulas de sorgo com cloreto de rubídio.

2.10.1 Efeitos das marcações com radioisótopos

Segundo L'Annunziata & Legg (1984) os insetos não são resistentes a níveis de radiações normalmente letais para o homem. A resistência às dosagens de radioisótopos depende da espécie do inseto, idade, estágio de desenvolvimento, nutrição, tensão de oxigênio, temperatura, etc.

A susceptibilidade dos insetos à irradiação depende, em grande parte, do estágio de desenvolvimento e da dosagem de radiação.

Geralmente, os insetos podem receber baixas dosagens de radiação *gamma* sem serem afetados em seu comportamento. Este comportamento dos insetos serem influenciados por determinados níveis de irradiação é utilizado como técnica de esterilização de insetos pragas para controle e erradicação de populações.

Um grande problema apresentado pela técnica de marcação utilizando elementos raros como disprósio (Dy), cério (Cs), estrôncio (Sr) e rubídio (Rb) é o período efetivo de marcação, pois os insetos marcados tendem a excretar o produto e, portanto, não podem ser marcados por longos períodos (Fernandes 2002).

2.11 Marcações de *Trichogramma* spp. com técnicas de radioisótopos

A dispersão dos insetos em seu habitat natural é essencial para a compreensão de sua biologia, demografia e etologia. Uma grande variedade de técnicas de marcação é utilizada para avaliar a dinâmica de populações de insetos, bem como dispersão, territorialidade, comportamento alimentar, nível trófico de interação e outras interações ecológicas. O marcador ideal é aquele que persiste sem produzir alterações na biologia do inseto. Além disso, estes marcadores devem ser ecologicamente seguros, efetivos e de fácil uso (Hagler & Jackson 2001).

Segundo Fernandes (2002) depois de criados ou capturados na natureza, os insetos são marcados e liberados em determinado ponto da área de estudo, recapturando-os a diferentes distâncias. O estudo da dispersão dentro de um programa de controle

biológico é fundamental, pois pode haver interesse em se saber qual é o raio de dispersão de um parasitóide ou predador após sua liberação para definir o número de pontos de liberação por área.

A marcação com radioisótopos pode ser feita com a utilização principalmente dos isótopos ^{32}P , ^{60}Co , ^{65}Zn , ^{195}Au , etc. A aplicação é feita sobre o inseto ou na sua dieta . Após a aplicação e/ou ingestão, a detecção pode ser realizada por meio de detectores de raios gama (Fernandes 2002).

Stern et al. (1965) avaliaram, durante 15 dias, a longevidade e dispersão em um campo de alfafa de *T. semifumatum* marcado com uma solução de mel contendo ^{32}P , oferecida imediatamente após a emergência. A distância percorrida por uma fêmea foi de até 10 milhas, superior a 1 milha percorrida pelos machos.

Chen & Chang (1991) testaram diferentes técnicas de pulverização e concentrações visando à marcação de *T. ostriniae* com ^{32}P para avaliação da longevidade das fêmeas, porcentagem de parasitismo, número e porcentagem de emergência. Os parâmetros avaliados não foram afetados quando os parasitóides foram pulverizados com a concentração de 4,55 $\mu\text{Ci/ml}$ que se mostrou como a dosagem adequada para a marcação dos adultos de *T. ostriniae*.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos foram desenvolvidos no Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), Universidade de São Paulo (USP), Piracicaba, SP, e no Laboratório de Irradiação de Alimentos e Radioentomologia do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP) também em Piracicaba; os estudos de campo foram realizados nas fazendas Entre Rios e Nossa Senhora da Paz, nos municípios de Gavião Peixoto e Pirassununga, respectivamente, ambas no estado de São Paulo.

3.1 Criação de manutenção de *Ecdytolopha aurantiana* (Lima, 1927)

Para os experimentos de laboratório e nas infestações artificiais em campo foram utilizados ovos de *E. aurantiana* provenientes da criação do Laboratório de Biologia de Insetos, mantido a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa (UR): $70\pm 10\%$ e fotofase de 14 horas, sendo os adultos obtidos a partir de dieta artificial descrita por Garcia e Parra (1999). Após a emergência, os adultos eram transferidos para gaiolas de madeira de 25 x 25 x 25 cm, revestidas com tela de náilon, sendo alimentados com solução de mel a 10%, fornecida por capilaridade, em rolos dentais mantidos em frascos plásticos (Figura 1). Uma das faces da gaiola, as laterais internas e os frascos plásticos foram revestidos com polietileno (material plástico), que serviu como substrato de oviposição (Garcia 1998). Uma parte dos ovos obtidos foi utilizada para dar continuidade à criação e a outra para a realização dos testes em laboratório e campo.

Figura 1- Criação de *Ecdytolopha aurantiana* em laboratório. A- Prateleira de madeira com tubos em posição inclinada para o desenvolvimento larval; B- Tubo com dieta artificial contendo pupas e adultos; C- Gaiola de madeira as laterais de polietileno (local de postura); D- Posturas em substrato de polietileno

3.2 Criação e manutenção de populações de espécies de *Trichogramma*

As espécies foram mantidas e multiplicadas em ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879), obtidos da criação existente no Laboratório de Biologia de Insetos da ESALQ/USP, utilizando-se a metodologia proposta por Parra (1997); segundo Gomes (1997) esta traça é o hospedeiro alternativo mais adequado para a criação desta espécie

Figura 2- Criação e manutenção de *Trichogramma*. A,B- Cartelas com ovos de *A. kuehniella* para o parasitismo e desenvolvimento larval/pupal dos parasitóides; C- Coleção de espécies/linhagens de *Trichogramma* do Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP

de parasitóide. Os ovos foram colados em cartolinas de 8,0 x 2,0 cm, com goma arábica diluída em água (50%) e submetidos a um processo de inviabilização pela exposição à luz germicida (ultravioleta) por um período de 45 minutos e a uma distância de 15 cm da fonte de luz (Stein & Parra 1987b). Nas extremidades das cartelas foram anotados a data do parasitismo e o código de identificação, possibilitando o controle das espécies/linhagens de *Trichogramma* mantidas no laboratório (Figura 2).

As cartelas foram colocadas em tubos de vidros de 8,5 x 2,5 cm, mantidas em câmara climatizada, regulada a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR: $70\pm 10\%$ e fotofase de 14 horas para o desenvolvimento dos parasitóides.

As espécies testadas foram multiplicadas de acordo com as necessidades dos experimentos.

A identificação das espécies mantidas na coleção Laboratório de Biologia de Insetos foi feita através de montagens de lâminas, usando a metodologia de Querino (2002). Posteriormente, estes exemplares foram montados, um por lâmina, em meio de Hoyer's, em posição dorso ventral, utilizando-se um microscópio estereoscópico com aumento de 40x. As lâminas preparadas foram mantidas por uma semana em estufa a $50\pm 5^{\circ}\text{C}$, "lutadas" e etiquetadas, sendo identificadas no laboratório de Taxonomia de Insetos da ESALQ/USP pelo Prof. Dr. R. A. Zucchi, especialista do grupo de parasitóides.

3.3 Seleção de espécies de *Trichogramma*

A seleção de espécies foi feita baseando-se nos resultados obtidos em condições de laboratório por Molina (2003), que definiu *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983, como as espécies mais adequadas para o controle de *E. aurantiana*.

Para a comparação, foram escolhidas 30 fêmeas das duas espécies, com idade máxima de 24 horas após a emergência, individualizadas em tubos de vidro de 8,0 x 2,5 cm, tampados com filme plástico de PVC Magipack® e alimentadas com uma gotícula de mel puro. Foram oferecidos, para cada fêmea, 30 ovos de *E. aurantiana* com 24 horas de desenvolvimento embrionário.

As fêmeas, 24 horas após o parasitismo, foram retiradas dos tubos de vidro e os ovos colocados em tubos de vidro de 12 x 75 mm, tampados com algodão hidrófilo. Foram colocados chumaços de algodão umedecidos com sulfato de cobre a 1% para evitar ressecamento e crescimento de microorganismos nos ovos (Figura 3).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, cada espécie correspondeu a um tratamento, com seis repetições, sendo cada repetição constituída por cinco tubos. Os parâmetros avaliados foram: número de ovos parasitados e porcentagem de parasitismo; estas observações foram feitas sob microscópio estereoscópico.

Figura 3- Tubos de vidro com chumaços de algodão tratados com sulfato de cobre a 1%; contendo os ovos de *Ecdytolopha aurantiana* parasitados por *Trichogramma atopovirilia* (no detalhe, ovos parasitados)

Avaliou-se também a capacidade de parasitismo da espécie selecionada como a mais adequada dentre as duas testadas para o controle de *E. aurantiana*. Foram avaliados, neste caso, o número de ovos parasitados diariamente, a porcentagem acumulada de parasitismo, o número total de ovos parasitados por fêmea e a longevidade das fêmeas.

Estes experimentos foram conduzidos em câmaras climatizadas reguladas a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR: $70\pm 10\%$ e fotofase de 14 horas.

Os parâmetros avaliados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas, pelo teste de Tukey ($P\leq 0,05$), utilizando-se o programa Sanest.

3.4 Capacidade de parasitismo de *T. atopovirilia* sobre ovos de *E. aurantiana*

A influência de fatores como tempo de exposição, temperatura, presença/ausência de alimento e idade hospedeira, foram avaliados no laboratório sobre o parasitismo de *T. atopovirilia* em ovos de *E. aurantiana*. A metodologia utilizada nestes estudos foi similar àquela descrita no item 3.3.

3.4.1 Influência do tempo de exposição e da temperatura sobre o parasitismo de *T. atopovirilia*

Avaliou-se o efeito do tempo de exposição e temperatura sobre a capacidade de parasitismo em ovos do bicho-furão. Para cada fêmea, individualizada, foram oferecidos 30 ovos de *E. aurantiana* com 24 horas de desenvolvimento; por períodos de 1, 2, 3, 4 e 5 horas, os ovos foram expostos ao parasitismo em câmaras climatizadas reguladas nas temperaturas de 10, 15, 20, 25, 30 e $35 \pm 1^\circ\text{C}$ e com umidade relativa de $70 \pm 10\%$.

Após os diferentes tempos de exposição nas diferentes temperaturas, as fêmeas foram retiradas e os ovos transferidos para câmaras climatizadas reguladas a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas (item 3.3). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, cada tratamento constou de cinco repetições, sendo cada repetição constituída grupos por quatro tubos.

Foi avaliado o número de ovos parasitados por fêmea. Os dados foram transformados em $\arcsin \sqrt{(x / 100)}$ e submetidos à análise de variância, à regressão polinomial e as médias de parasitismo comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

3.4.2 Efeito da disponibilidade de alimento sobre o parasitismo de *T. atopovirilia*

Para determinar a influência do alimento no parasitismo diário, três grupos contendo, cada um, trinta fêmeas de *T. atopovirilia*, com idade de 24 horas, foram

individualizadas para serem avaliadas no laboratório, em câmara climatizada regulada a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 14 horas. O primeiro grupo era composto por fêmeas alimentadas com uma gotícula de mel desde a emergência até a morte, o segundo grupo era constituído de fêmeas alimentadas durante 24 horas após a emergência; no terceiro grupo, as fêmeas não foram alimentadas.

Cada grupo constituiu um tratamento representado por cinco repetições e cada uma delas representada por cinco tubos. Trinta ovos de *E. aurantiana* foram oferecidos diariamente para cada fêmea e, após o período de 24 horas de parasitismo, os ovos foram transferidos para tubos de vidro (item 3.3).

Foram avaliados o número médio de ovos parasitados diariamente, para determinar a porcentagem de parasitismo diário, longevidade das fêmeas, porcentagem de emergência e número de adultos emergidos por ovo. Os parâmetros avaliados foram transformados em $\arcsin \sqrt{(x / 100)}$ e submetidos à regressão polinomial de segundo grau.

3.4.3 Efeito da idade do ovo sobre o parasitismo de *T. atopovirilia*

A idade hospedeira é um dos mais importantes fatores que influenciam os aspectos etológicos e ecológicos da relação parasitóide-hospedeiro. No presente experimento, trinta ovos de *E. aurantiana* com 24, 48, 72, 96 e 120 horas de desenvolvimento, foram oferecidos simultaneamente em teste de livre escolha e com as idades definidas (24, 48, 72, 96 e 120 h) e no teste de confinamento, para fêmeas individualizadas de *T. atopovirilia*, com 24 horas de idade e alimentadas com uma gotícula de mel puro, colocadas em placas de Petri vedadas com filme transparente de PVC (Figura 4). Após 24 horas, as fêmeas foram retiradas e os ovos transferidos e levados para câmaras climatizadas (item 3.3). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 5 tratamentos e 5 repetições; os dados dos parâmetros avaliados foram transformados em $\arcsin \sqrt{(x / 100)}$, submetidos à análise de variância e as médias comparadas, pelo teste de Tukey ($P\leq 0,05$).

Figura 4- Teste para avaliar o efeito da idade do ovo sobre o parasitismo por *Trichogramma atropvirilia*. Placas de Petri vedadas com filme de PVC. A- Teste de livre escolha; B- Teste de confinamento. Temperatura: $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR: $70\pm 10\%$ e fotofase: 14 horas

3.5 Marcação de *T. atropvirilia* com ^{32}P para determinação da capacidade de dispersão no campo

Estes trabalhos foram conduzidos no Laboratório de Biologia de Insetos em parceria com o Laboratório de Irradiação de Alimentos e Radioentomologia do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) e os testes de campo foram efetuados na Fazenda Nossa Senhora da Paz em Pirassununga, São Paulo.

Inicialmente, desenvolveram-se estudos visando à marcação com ^{32}P dos indivíduos da espécie *T. atropvirilia*, dos ovos parasitados e dos descendentes da geração F₁. A técnica utilizada foi àquela proposta por Stern et al. (1965), ou seja, os adultos foram alimentados com uma mistura de 2ml de ^{32}P e 1ml da solução de mel (2/3 mel e 1/3 água). Os tratamentos foram representados por cinco repetições, sendo cada

uma constituída por uma parcela com 5 tubos. Imediatamente após o acasalamento e 24 horas após, 30 fêmeas foram individualizadas em tubos de vidro de 8,0 x 2,0 cm, sendo oferecidos para o parasitismo, 30 ovos de *E. aurantiana*, com 24 horas de desenvolvimento.

Figura 5- Determinação de material radioativo (^{32}P) assimilado por *Trichogramma atopovirilia*. A- Cintilador liquido; B- Frascos com 5ml de água e ovos de *Ecdytolopha aurantiana* após o parasitismo; C- Tubos para medição em CPM (contagem por minuto) do material marcado

Depois de 24 horas, as fêmeas e uma parte de ovos parasitados foram retirados dos tubos de vidro e colocados em frascos de 20 ml para medição da radiação *beta* em cintilador liquido (Figura 5), determinando-se a quantidade de material radioativo assimilado pelos parasitóides. A outra parte dos ovos foi deixada nos tubos de vidro até a emergência da geração F_1 . Nestes tubos, tampados com algodão hidrófilo,

colocaram-se chumaços de algodão umedecidos com sulfato de cobre a 1%, para evitar ressecamento e o crescimento de fungos nos ovos; a seguir, foram colocados em grades e levados à câmara climatizada regulada a $25\pm1^{\circ}\text{C}$, UR: $70\pm10\%$ e fotofase de 14 horas.

Figura 6- Esquema da marcação de *Trichogramma atopovirilia* com ^{32}P . A- Solução de mel e ^{32}P ; B- Fêmea do parasitóide alimentando-se com a solução radioativa; C- Fêmea marcada parasitando ovo de *E. aurantiana*; D- Ovo parasitado e marcado; E- Emergência de indivíduo da geração F_1 marcado

Os parâmetros avaliados quanto à radioatividade foram: 1) marcação dos indivíduos alimentados com mistura radioativa; 2) os ovos parasitados; 3) indivíduos da geração F_1 marcados emergirão deles (Figura 6); a porcentagem de parasitismo foi o parâmetro biológico estudado; os dados foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, à análise de variância e as médias comparadas, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$) as médias. Após a definição da dosagem ótima para marcação de *Trichogramma*, foram desenvolvidos trabalhos em campo para medir a dispersão destes parasitóides (item 3.7).

3.6 Estratégias de liberação de *T. atovirilia* em pomares cítricos

Os trabalhos para determinação de frequência, quantidade, técnicas e época de liberação, foram realizados em duas épocas do ano; a primeira, de abril a junho e a segunda, de julho a setembro. Escolheram-se duas áreas para desenvolver estes experimentos: a primeira, foi uma quadra de 29,45 hectares da Fazenda Entre Rios, em Gavião Peixoto, São Paulo, pertencente à empresa citrícola Fisher S/A Agropecuária, correspondente ao setor 137 e com aproximadamente 6.000 plantas de laranja de variedade Natal. Para experimentação, foram escolhidos 14,49 ha em época de alta infestação (abril a junho). Para o segundo período (julho a setembro) trabalhou-se com infestação artificial, selecionando-se o setor 15 da fazenda Nossa Senhora da Paz, em Pirassununga, São Paulo, com uma área de 58 ha, com aproximadamente 5.100 plantas da variedade Valência.

3.6.1 Técnica de liberação

As áreas escolhidas foram subdivididas em 16 parcelas experimentais de 70,2 x 32 m, correspondendo a 0,23 ha (Figura 7), contendo aproximadamente 86 árvores. Como pontos de liberação, foram selecionadas 15 árvores em cada parcela,

sendo marcadas com uma etiqueta de material plástico pendurada com barbante (Figura 8).

Antes de cada liberação dos parasitóides em campo, alguns procedimentos foram tomados, ainda no laboratório. Para se estimar o número de adultos que seriam liberados em campo, os cartões contendo ovos parasitados por *T. atopovirilia* foram submetidos à avaliação do número médio de ovos parasitados por cm^2 , por meio da contagem, ao acaso, de 10 pontos, com o auxílio de uma folha plástica transparente e quadriculada (Lopes, 1988).

Figura 7- Vista aérea de uma parte do setor 137 da Fazenda Entre Rios, em Gavião Peixoto, SP, mostrando as parcelas de 0,23 ha com as 15 árvores marcadas onde foram feitas as liberações do parasitóide

Figura 8- Etiqueta de material plástico, pendurada com barbante, utilizada para marcar as árvores onde foram feitas às liberações e avaliações periódicas de *Trichogramma atopovirilia*

Para cada um dos experimentos em campo, a técnica de liberação de adultos do parasitóide consistiu no acondicionamento de cartolinas contendo ovos colados e parasitados, de mesma idade, em copos plásticos de 6,5 x 7,0 cm com tampas. Antes da emergência, gotículas de mel foram espalhadas pelo interior do copo, com auxílio de um estilete, para alimentação dos adultos. Os adultos recém emergidos, no interior dos recipientes, foram levados ao campo para liberação, 12 ou 24 horas após a emergência. Os copos plásticos com os adultos de *T. atopovirilia* foram presos entre os galhos da árvore entre 1,5 e 2m de altura e a tampa foi retirada, permitindo a saída dos parasitóides no ponto selecionado (Figura 9).

Figura 9- Metodologia de liberação de *Trichogramma atopovirilia* em pomares cítricos.

A- Copo plástico com tampa contendo material para ser levado na área experimental; B- Liberação do parasitóide em campo; C- Copo preso no galho da árvore contendo cartolina com *Trichogramma*

3.6.2 Determinação da frequência, quantidade de parasitóides e época de liberação de *T. atopovirilia* por unidade de área

Anteriormente a cada liberação, foi monitorada a presença de adultos da praga na área, por meio de uma armadilha Ferocitrus Furão[®], colocada no terço superior da planta, sustentada por um bambu (Figura 10). Semanalmente, os adultos capturados foram contados, determinando-se, desta forma, a frequência de liberação, iniciada a partir da detecção de 6 adultos/armadilha/semana, conforme metodologia de Bento et al. (2001a).

Figura 10- Armadilha Ferocitrus Furão[®] instalada na parte superior da planta para monitorar, semanalmente, a presença de *Ecdytolopha aurantiana*. Em detalhe armadilha com adultos capturados, na parte superior esquerda da figura

3.6.2.1 Liberações em período de alta infestação

Na fazenda Entre Rios, entre os meses de abril e junho, correspondente ao período de alta infestação da praga, para determinar a quantidade de parasitóides a ser liberado por ponto, avaliou-se, semanalmente o número de ovos por fruto antes de cada liberação. Para tanto, foram selecionadas 100 plantas, dentro do talhão, das quais coletaram-se 5 frutos/planta para se verificar a presença de posturas da praga, conforme a metodologia utilizada por Newton (1988) para o controle de *Cryptophlebia leucotreta* (Meyrick, 1913) em pomares de citros, na África do Sul. Os frutos foram colocados em sacos plásticos de 45 x 45 cm e levados ao laboratório para serem examinados sob microscópio estereoscópico, para verificação de ovos ou córions (quando já havia ocorrido a eclosão). A liberação dos parasitóides foi realizada 2 dias após a constatação do nível de controle nas armadilhas do feromônio, o que correspondeu ao período de pré-oviposição da praga.

Na área referida (Figura 7) foi instalado o experimento com 4 tratamentos: testemunha (sem liberação), 18, 36 e 72 parasitóides por ovo da praga, dados modificados de Molina (2003); sendo que para cada tratamento tinha 4 repetições (Figura 11). Portanto, a quantidade de *Trichogramma* a ser liberada por ponto dependeu do número de ovos/fruto.

Foram utilizadas duas metodologias para avaliar-se a eficiência das liberações no pomar. Na primeira delas, quatro dias após a liberação, coletaram-se 5 frutos por árvore, de 37 árvores localizadas na parte externa da parcela, para determinação da porcentagem de parasitismo (Figura 12A). Aproximadamente, 2960 frutos foram coletados após cada liberação, e, levados ao laboratório para serem avaliados.

A segunda metodologia constou da avaliação de danos. Assim, quinze dias após as liberações, os frutos com sintomas do ataque do bicho-furão foram coletados das três árvores centrais usadas como pontos de liberação e naquelas localizadas nas extremidades, nas faces norte, sul, leste, oeste, em cada um dos tratamentos (Figura 12B). Os frutos foram examinados no laboratório, dissecando-os para extração

Figura 11- Vista aérea do setor 137 da fazenda Entre Rios, Gavião Peixoto, SP, mostrando os tratamentos e os pontos de liberação de *Trichogramma atopovirilia*. A especificação dos tratamentos encontra-se na parte superior da figura

das lagartas. De acordo com o ínstar, houve possibilidade, em função da biologia (Parra, J.R.P., informação pessoal) de se determinar o tempo do início de ataque. Para cada avaliação, coletaram-se os frutos danificados de um total de 240 plantas.

Os dados de precipitação pluviométrica, temperatura (máxima e mínima) e umidade relativa foram obtidos em um posto meteorológico situado a 12 Km da área experimental.

3.6.2.2 Liberações em período de baixa infestação

De julho a setembro como a infestação natural da praga foi baixa, procedeu-se à infestação artificial da área na fazenda Nossa Senhora da Paz, adotando-se com as metodologias de avaliação e liberação utilizadas nos meses de abril a junho. Devido à época seca, aumentaram-se os números de *Trichogramma* liberados por ovo da praga. Foram considerados 6 tratamentos: testemunha (sem liberação), 72, 144, 288, 576 e 1152 parasitóides por ovo da praga, sendo que cada tratamento constou de 4 repetições.

Inicialmente, foi feita uma infestação artificial em 20 frutos/planta, colocando-se 3 ovos de *E. aurantiana*/fruto obtidos no substrato de postura em laboratório (polietileno) e fixados nos frutos com alfinetes; realizou-se a liberação dos parasitóides nas proporções mencionadas, recolhendo-se os frutos 24 h após tais liberações (Figura 13).

Esta metodologia foi descartada pois os ovos, sobre o plástico, sofriam ressecamento no campo, afetando, assim, a eficiência do parasitóide.

Assim, decidiu-se levar ao campo frutos contendo de 3 a 5 ovos de *E. aurantiana*. Para obtenção de ovos nos frutos, foram colocados frutos e 80 casais da praga em gaiolas de alumínio de 70x50x50, revestidas de tela de náilon; os adultos receberam alimentação com solução de mel ao 10%. Após 24 horas de permanência nas gaiolas,

Figura 12- Esquema de uma das parcelas experimentais na Fazenda Entre Rios, em Gavião Peixoto, SP; A- Pontos de avaliação do parasitismo por *Trichogramma atopovirilia*; B- Pontos de avaliação dos danos causados por *Ecdytolopha aurantiana*. A especificação dos tratamentos encontra-se na parte inferior das figuras

Figura 13- Postura de *Ecdytolopha aurantiana* em polietileno fixado ao fruto para infestação artificial no pomar, nos meses de julho a setembro

os frutos foram levados no campo, pendurando-os nas árvores com auxílio de um gancho de arame. Colocaram-se 20 frutos por planta, sendo, a seguir, efetuada a liberação do parasitóide nas proporções correspondentes aos diferentes tratamentos. Vinte e quatro horas depois, os frutos foram recolhidos e levados no laboratório para avaliar a percentagem de parasitismo (Figura 14).

Após cada liberação, foi avaliada a porcentagem de frutos atacados (abril a junho) e a porcentagem de parasitismo (julho a setembro). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e os dados foram submetidos à análise de variância e à regressão polinomial, sendo as médias comparadas, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Figura 14- Metodologia para infestação artificial de *Ecdytolopha aurantiana*. A- Gaiola para obtenção de posturas sobre frutos; B- Fêmeas de *E. aurantiana* ovipositando; C- Ovo de *E. aurantiana* sobre o fruto; D- Frutos contendo ovos, pendurados nas arvores com ganchos de arame. A seta indica a localização do gancho de arame

3.6.2.2.1 Avaliação do parasitismo sobre posturas em dois substratos de oviposição

Testou-se a capacidade do parasitismo de *T. atopovirilia* sobre ovos de *E. aurantiana* colocados diretamente no fruto pelo inseto ou infestado artificialmente com plásticos contendo ovos. Para este experimento, utilizaram-se mudas de citros de aproximadamente 1m de altura, recobertas com tecido branco e fino “voile”. Uma parte dos ovos utilizada foi obtida do substrato de postura (polietileno) na criação de manutenção (item 3.1); estes foram distribuídos pela planta e fixados com alfinetes. O outro substrato de oviposição foi fruto contendo ovos colocados pelos insetos (item 3.6.2.2).

Foram colocados 60 ovos de bicho-furão por planta, sendo liberados 36, 72, 144 e 288 parasitóides:ovo, num total de 5 tratamentos incluindo a testemunha e 4 repetições para cada tratamento estudado. Os ovos foram expostos ao parasitismo por 24 horas, sendo a seguir retirados e levados para câmaras climatizadas reguladas a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR: $70\pm 10\%$ e fotofase de 14 horas até seu escurecimento característico do parasitismo, para determinação da porcentagem deste parasitismo. Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas, pelo teste de Tukey ($P\leq 0,05$).

3.7 Capacidade de dispersão de *T. atopovirilia* marcado com ^{32}P

Os experimentos de dispersão foram instalados, na fazenda Nossa Senhora da Paz, em pomar da variedade Valência, com espaçamento de 4.0 x 8.0 metros, tendo como objetivo determinar o raio efetivo de ação dos parasitóides em campo. Foram utilizados frutos contendo ovos de *E. aurantiana*, dispostos a diferentes distâncias de um ponto central de liberação. Este trabalho contou com 5 tratamentos e 5 repetições. Cada tratamento foi representado por elipses com raios de 4x8, 8x16, 12x24 e 16x32 m, cada

uma delas contendo de 4, 12, 16, e 20 pontos eqüidistantes do ponto central (Figura 15); a área das elipses foram calculadas pela formula: $a = \pi r_1 r_2$.

Em cada ponto foram colocados aproximadamente 500 ovos, totalizando cerca de 8.000 ovos de *E. aurantiana* em toda a área. Foram liberados, aproximadamente, 3 milhões de *T. atopovirilia* (288 parasitóides:ovo da praga) no ponto central de cada área, submetidos previamente à marcação com ^{32}P (item 5.4). De forma análoga, foram utilizadas áreas com as mesmas características mantidas como testemunha, sem a liberação de *T. atopovirilia*, para corrigir o eventual parasitismo natural existente.

Para avaliar a dispersão dos parasitóides e para evitar a predação dos ovos, 24 horas após a liberação, os frutos foram retirados para posterior avaliação da porcentagem de parasitismo para cada distância do ponto de liberação e avaliação dos parasitóides marcados com material radioativo em cintilador líquido (Item 3.5). Para a determinação do porcentagem de parasitismo nas diferentes distâncias, os dados foram analisados pelo software Table Curve 2D. Para avaliar a dispersão de *T. atopovirilia* marcado com ^{32}P utilizou-se o modelo matemático de Dobzhansky & Wright (1943) com modificações. Utilizou-se a seguinte metodologia:

- a) Áreas das elipses transformadas em áreas de círculos.
- b) Determinação de variância de cada círculo, dada por:

$$s_i^2 = \frac{r_i^3 \frac{N_i}{a_i}}{r_i \frac{N_i}{a_i} + \frac{c}{2\pi}}$$

- c) Determinação de variância média dos círculos.
- d) Determinação das distâncias médias, dadas por:

$$Dm_i = \frac{r_i^2 \frac{N_i}{a_i}}{r_i \frac{N_i}{a_i} + \frac{c}{2\pi}}, \text{ onde:}$$

r_i = Distância do centro

$i = 2, 3 \dots k$

k = Número total de círculos

a_i = Número de frutos por círculo

N_i = Porcentagem de parasitismo por círculo

c = Porcentagem de parasitismo por número de frutos para o círculo central

e) Determinação das médias das distâncias médias dos círculos.

Figura 15- Esquema de liberação de *Trichogramma atopovirilia* marcado com ^{32}P e sua dispersão em Pirassununga, SP, na Fazenda Nossa Senhora da Paz. Em destaque uma das parcelas com os 4 tratamentos. A especificação dos tratamentos encontra-se na parte inferior esquerda da figura

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Seleção de espécies de *Trichogramma*

A capacidade de parasitismo (número médio de ovos parasitados e porcentagem de parasitismo) sobre ovos de *Ecdytolopha aurantiana* (Lima, 1927) foi maior para a espécie *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983, observando-se uma média de 24,8 ovos parasitados e 82,5% de parasitismo em 24 horas, deferindo significativamente dos valores obtidos para *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879, que apresentou uma média de 21,2 ovos parasitados e 70,7% de parasitismo no mesmo período (Figuras 16 e 17). Molina (2003), em testes de seleção de linhagens, avaliou 13 espécies/linhagens de *Trichogramma* sobre ovos de *E. aurantiana* e observou que a média de ovos parasitados por *T. atopovirilia* foi de 23,3, sendo 77,5% a porcentagem de parasitismo em 24 horas, sendo a espécie selecionada por diferir significativamente das demais linhagens/espécies avaliadas.

A seleção das espécies de *Trichogramma* mais apropriadas para ser liberada no campo é um processo que apresenta dificuldades, pela grande variabilidade intraespecífica existente nas espécies conhecidas destes parasitóides; assim, têm sido relatadas diferenças no potencial de parasitismo entre espécies e/ou linhagens devido às variações de comportamento de busca, preferência e adequação ao hospedeiro que podem ocorrer tanto entre linhagens de espécies diferentes como entre linhagens de uma mesma espécie (Hassan 1989, Hassan & Guo 1994, Pinto & Stouthammer 1994, Wührer & Hassan 1993, Li et al. 1994).

Figura 16- Número médio de ovos de *Ecdytolopha aurantiana* parasitados por *Trichogramma atopovirilia* e *T. pretiosum*. Período de parasitismo: 24 horas. Temperatura: $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR: $70\pm 10\%$ e fotofase: 14 horas. Médias seguidas de mesma letra, nas barras, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P\leq 0,05$)

Figura 17- Porcentagem de parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* e *T. pretiosum* em ovos de *Ecdytolopha aurantiana*. Período de parasitismo: 24 horas. Temperatura: $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR: $70\pm 10\%$ e fotofase: 14 horas. Médias seguidas de mesma letra, nas barras, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P\leq 0,05$)

Assim, na presente pesquisa, a espécie *T. atopovirilia* foi selecionada como a de maior potencial para o controle de *E. aurantiana*. A capacidade de parasitismo desta espécie foi de 99,70 ovos parasitados por fêmea (Figura 18), resultados diferentes daqueles obtidos por Molina (2003), pois naquele caso, as fêmeas desta mesma espécie, mantidas a 28°C e provenientes de ovos de *E. aurantiana* e de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) apresentaram uma capacidade de parasitismo respectivamente de 105,8 e 109,8 ovos/fêmea; apesar das diferenças encontradas, todos os valores encontram-se dentro da faixa de 70 a 120 ovos parasitados por fêmea, descrita por Parra & Zucchi (1986).

O número médio de ovos parasitados por fêmea e a porcentagem de parasitismo de *T. atopovirilia* se aproximam daqueles obtidos por espécies/linhagens de *Trichogramma* sobre tortricídeos, e de *T. minutum* Riley, 1879 sobre *Rhopobota naevana* (Hübner, 1817) apresentando uma taxa de 78% de parasitismo (Li et al. 1994) e sobre *Choristoneura rosaceana* (Harris, 1841) com valores de 26.3 ovos/fêmea (McGregor et al. 1998). Com relação à porcentagem acumulada de parasitismo, as fêmeas de *T. atopovirilia* já tinham parasitado, até o sexto dia, mais de 80% do total dos ovos. Molina (2003) obteve um percentual de 80,7% até o quinto dia e de 86,3% até o sétimo dia para fêmeas desta mesma espécie provenientes de *E. aurantiana* e de *A. kuehniella*, respectivamente, portanto, com uma tendência bastante semelhante àquela obtida na presente pesquisa.

Figura 18- Parasitismo médio diário e acumulado de *Trichogramma atopovirilia* em ovos de *Ecdytoplopha aurantiana*. Temperatura: $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR: $70\pm 10\%$ e fotofase: 14 horas

A longevidade é uma característica importante, que deve ser levada em consideração nos programas de controle biológico, em que pode ser influenciada por diversos fatores, incluindo a temperatura, umidade, fotoperíodo, hospedeiro e alimento (Yu et al. 1984a; Smith et al. 1986; Gomes 1997; Pratissoli 1995; Parra et al. 1991). A longevidade de *T. atopovirilia* encontrada neste trabalho foi de 9,8 dias, valor que difere de 7,0 dias obtidos para a espécie por Molina (2003) com a mesma espécie da praga.

4.2 Capacidade de parasitismo de *T. atopovirilia* sobre ovos de *E. aurantiana*

4.2.1 Influência do tempo de exposição e da temperatura sobre o parasitismo de *T. atopovirilia*

Os insetos são organismos poeilotérmicos e sua atividade é influenciada pela temperatura. Assim, pôde-se observar a influência deste fator sobre o parasitismo de *T. atopovirilia* em ovos de *E. aurantiana*; a 10°C, a atividade decresceu entre as duas e quatro primeiras horas e reiniciou-se na quinta hora de exposição sendo de 2,60 a porcentagem de parasitismo durante este período (Figura 19A); para os outros casos, à medida que passava o tempo, a partir da segunda hora de exposição, notou-se o incremento do parasitismo; assim, a 15, 20, 25 e 30°C, obtiveram-se porcentagens de 11,8; 17,6; 20,6 e 23,8%, respectivamente (Figura 19B, C, D, E); a 35°C, nas três primeiras horas, o parasitismo manteve-se abaixo do 10%, chegando a uma média de 14,4% (Figura 19F). Estudos têm demonstrado que a temperatura afeta significativamente o início e duração de vôo de *T. minutum* (Forsse et al. 1992), fato também registrado por Prasad et al. (1999) para *Trichogramma sibericum* Sorokina, 1981. Pak & Van Heiningen (1985) constataram que a oviposição decresceu com o

Figura 19- Parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* em ovos de *Ecdytolopha aurantiana* por períodos de 1, 2, 3, 4 e 5 horas nas temperaturas de 10, 15, 20, 25, 30 e 35°C; UR: 70±10% e fotofase: 14 horas

incremento da temperatura para *Trichogramma maidis* Pintureau et Voegelé, 1980, *T. pretiosum* e *Trichogramma semblidis* (Aurivillius, 1897). Este efeito é mais visível no campo, conforme relatado por Brouchier & Smith (1996) para *T. minutum*. A temperatura é um dos principais fatores responsáveis pelo sucesso de programas de Controle Biológico e a tolerância às baixas

temperaturas tem sido apontado como um dos fatores mais importantes para sucesso de liberações de *Trichogramma* em áreas temperadas (Biggler 1994).

Nas temperaturas avaliadas na presente pesquisa, durante as duas primeiras horas, o parasitismo se manteve inferior a 10%, aumentando nas três horas subsequentes até atingir valores próximos a 25%, aproximadamente (Figura 20A). Os maiores valores de parasitismo foram obtidos a 30°C, que chegou a 22,8%, diferindo dos valores alcançados a 10, 15 e 35°C (Figura 20B). Pôde-se assim constatar que as fêmeas se aclimataram após as duas primeiras horas de exposição às diferentes temperaturas; entretanto, a despeito desta adaptação, temperaturas extremas, como as de 10, 15 e 35°C, levaram a um menor parasitismo, talvez como consequência do custo adaptativo ao estresse a que os insetos foram submetidos (Parsell & Lindquist 1993). Estes autores concluíram que em situação de estresse, o inseto produz, como defesa, algumas proteínas, que levam a uma menor fecundidade.

Portanto, para liberações de campo, a temperatura na qual o inseto é criado em laboratório, pode levar a sucesso ou fracasso de um programa de Controle Biológico. Para *T. atopovirilia* a faixa de atuação estaria entre 20 e 30°C (Figura 20).

Figura 20- Porcentagem de parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* durante 5 horas em ovos de *Ecdytolopha aurantiana*. A- Parasitismo médio durante 5 horas; B- Parasitismo nas temperaturas de 10, 15, 20, 25 30 e 35°C. Médias seguidas de mesma letra, nas barras, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$)

4.2.2 Efeito da disponibilidade de alimento sobre o parasitismo de *T. atopovirilia*

As fêmeas de *T. atopovirilia* alimentadas com uma gotícula de mel puro desde a emergência até a morte, apresentaram uma longevidade de 9,6 dias, diferindo dos resultados obtidos para aquelas que foram alimentadas somente durante 24 horas após a emergência e das que não receberam alimento. Nestes dois últimos casos, as fêmeas viveram menos de um dia (Tabela 1). Bleicher & Parra (1991) observaram que para *Trichogramma* spp., a longevidade foi maior quando os parasitóides tiveram chance de parasitar e quando foram alimentados com mel puro. Leatemia et al. (1995), McDougall & Mills (1997), Gurr & Nicol (2000) e Pratissoli et al. (2004) observaram resultados semelhantes para as diferentes espécies e com fontes de diferentes carboidratos fornecidas aos parasitóides.

A alimentação não afetou a porcentagem de emergência e nem o número de adultos de *T. atopovirilia* por ovo de *E. aurantiana* (Tabela 1). No caso das fêmeas alimentadas, constatou-se que o parasitismo médio diário alcançou as maiores taxas nos primeiros dias, decrescendo para valores inferiores a 20% a partir do sétimo dia (Figura 21). O parasitismo durante 24 horas, o único dado que permitiu uma comparação entre tratamentos, mostrou a necessidade do inseto se alimentar por um período maior (Tabela 1). A porcentagem de parasitismo registrado por fêmeas alimentadas é similar ao resultado de 77,5% de parasitismo para *T. atopovirilia* durante um período de 24 horas obtido por Molina (2003), nas mesmas condições de temperatura, UR, fotoperíodo e alimentação.

Tabela 1. Porcentagem de parasitismo durante 24 horas, longevidade de fêmeas, emergência e número de adultos de *Trichogramma atopovirilia* por ovo de *Ecdytolopha aurantiana*. Temperatura: 25±1°C, UR: 70±10% e fotofase: 14 horas

Tratamento	Parasitismo (%) (24h)	Longevidade (dias)	Emergência (%)	Número de adultos por ovo ¹
CA	76,20 ± 0,25 a	9,56 ± 1,50 a	59,09 ± 0,14 a	1,51 ± 0,20 a
SA ₁	40,13 ± 0,29 b	0,80 ± 0,55 b	56,27 ± 0,09 a	1,15 ± 0,07 a
SA ₂	37,77 ± 0,30 b	0,77 ± 0,63 b	56,00 ± 0,14 a	1,10 ± 0,14 a

CA= Fêmeas alimentadas com mel puro desde a emergência até a morte, SA₁= Fêmeas alimentadas durante 24 horas após a emergência, SA₂= Fêmeas não alimentadas. Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P≤0,05).

¹Dados transformados em arc sen $\sqrt{(x / 100)}$.

Figura 21- Parasitismo médio diário de *Trichogramma atopovirilia*, alimentados com mel puro, em ovos de *Ecdytolopha aurantiana*. Temperatura: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 14 horas

Os resultados mostram a necessidade de se alimentar as espécies de *Trichogramma* antes das liberações em campo, para que se tenha maior parasitismo em função da maior longevidade do parasitóide. Evidentemente que, a abundância de carboidratos nos locais de liberação (néctar, por exemplo) poderão incrementar o parasitismo. Assim, a escolha de áreas de liberação poderá ser fundamental em programas de Controle Biológico Aplicado com *Trichogramma* spp.

4.2.3 Efeito da idade do ovo sobre a preferência do parasitismo de *T. atopovirilia*

O parasitismo foi maior em ovos de 24 horas de desenvolvimento embrionário, em relação aos ovos com 48, 72, 96 e 120 horas. No teste de confinamento (Figura 22A), a percentagem de parasitismo foi de 64,0, 28,1, 20,8, 1,6 e 0,03% para ovos de 24, 48, 72, 96 e 120 horas, respectivamente. No teste de livre escolha (Figura 22B), o parasitismo foi inferior a 10% possivelmente pelo tempo que a fêmea “gastou” na procura do hospedeiro mais adequado. Entretanto, mesmo neste caso, o parasitismo foi mais elevado em ovos mais novos, com porcentagens variáveis de 8,7, 6,6 e 3,4%, respectivamente para ovos de 24, 48 e 72 horas. Observou-se uma estreita relação entre o número de ovos parasitados com as diversas características biológicas. Assim, ovos mais “velhos” levaram a um alongamento do ciclo, diminuição da porcentagem de emergência de parasitóides e redução da fecundidade. Estas relações estão ligadas ao desenvolvimento embrionário, cujas transformações são rápidas e drásticas e podem permitir um adequado ou inadequado desenvolvimento do parasitóide (Pak 1986). Estas associações foram também observadas por Ruberson & Kring (1993) quando estudaram o efeito da idade de ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) no parasitismo por *T. pretiosum*.

A diminuição na porcentagem de parasitismo de ovos em estágios embrionários mais avançados, também foi demonstrada por Lopes & Parra (1991) com *T. galloi* e *Trichogramma distinctum* Zucchi, 1988 sobre ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) e de *A. kuehniella* (Zeller, 1879); por Reznik & Umarova (1990) com *Trichogramma embryophagum* (Harting, 1938) e *T. semblidis* sobre ovos de *Sitotroga cerealella* (Oliver, 1789) e por Reznik et al. (1997) com *Trichogramma nubilale* (Ertle & Davis, 1975) e *Trichogramma principium* Sugonjaev & Sorokina, 1976, sobre *S. cerealella*. Com *Ostrinia nubilalis* (Hübner, 1796) e *T. nubilale*, Hintz & Andow (1990) chegaram a resultados semelhantes.

Figura 22- Influência da idade do ovo no parasitismo por *Trichogramma atopovirilia* em ovos de *Ecdytolopha aurantiana*. A- Teste de confinamento; B- Teste de livre escolha. Período de parasitismo: 24 horas. Temperatura: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 14 horas. Médias seguidas de mesma letra, nas barras, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$)

A influência da idade do ovo no parasitismo tem duas implicações práticas para programas de Controle Biológico Aplicado com *Trichogramma* spp.: a primeira, refere-se à produção massal em laboratório, pois se forem oferecidos ovos mais “velhos”, a qualidade do parasitóide pode ser comprometida e a eficiência diminuída no campo; a segunda implicação, está relacionada ao monitoramento da praga no campo, pois se for indicada a liberação quando os ovos já estiverem em estágios avançados de desenvolvimento embrionário, os resultados tendem a ser prejudicados.

4.3 Marcação de *T. atopovirilia* com ^{32}P para determinar capacidade de dispersão no campo

A dosagem e a vida biológica média do radioisótopo ^{32}P utilizados foram eficientes na marcação dos espécimens de *T. atopovirilia* alimentados com a solução radioativa, dos ovos de *E. aurantiana* parasitados e dos indivíduos da geração F₁ destes parasitóides, sem afetar a sua biologia e desenvolvimento.

As médias da contagem por minuto (cpm) dos adultos de *T. atopovirilia* apresentaram-se maiores que as da geração F₁ que emergiram dos ovos parasitados (Tabela 2). Estas diferenças podem estar ligadas à ingestão, aplicação externa, contaminação interna pelo comportamento de limpeza do parasitóide ou pela penetração via cutícula da substância marcadora.

A porcentagem total de parasitismo não diferiu entre os tratamentos, sendo observado um parasitismo de 83,2% para os indivíduos alimentados com uma gotícula de mel puro e considerados como testemunha; 80,2% para aqueles parasitóides alimentados com a solução de mel e marcados com ^{32}P e 80,4% para os indivíduos da geração F₁ (Figura 23). Portanto, os comportamentos de aceitação e parasitismo não foram afetados pela dosagem utilizada para a marcação de *T. atopovirilia* com o material radioativo.

Tabela 2. Médias de contagem por minuto (cpm) das marcações de *Trichogramma atopovirilia* com ^{32}P e respectivos intervalos de variação

Tratamentos	cpm (contagem por minuto)	
	Intervalo de Variação	Média
Testemunha (sem marcação)	8,9 - 13,5	11,1 a
Adultos ^{32}P (marcados)	2.895,3 - 125.154,0	27.853,3 b
Adultos F ₁ (marcados)	248,1 - 2.703,1	1.269,5 c

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis ($P \leq 0,05$).

A emergência só foi avaliada para a geração F₁, obtendo-se 40,01% de emergência e 1,33 de indivíduos por ovo, valores próximos àqueles relatados por Molina (2003) para *T. atopovirilia*, ou seja, 30,9% de viabilidade (emergência) e 1,5 adultos/ovo de *E. aurantiana* (Figura 24).

Segundo Hagler & Jackson (2001) existe uma grande diversidade de materiais e métodos utilizados para marcar animais em pesquisas biológicas. Nem sempre elas podem ser utilizadas para a marcação de insetos e assim, os entomologistas adaptam procedimentos para serem utilizados em seus estudos; por este motivo, o marcador ideal para uma espécie de inseto pode não ser adequado para outra. Vários autores pesquisaram técnicas de marcação sobre *Trichogramma* spp. e outros insetos com o objetivo de implementar novas metodologias de marcação e recaptura para estudos de dispersão (Stern et al. 1965; L'Annunziata & Legg 1984; Arthur et al 1987; Chen & Chang 1991; Garcia & Landis 1997; Hagler & Jackson 1998; Bellamy & Byrne 2001).

Figura 23- Porcentagem de parasitismo de adultos de *Trichogramma atopovirilia* marcados com ^{32}P sobre ovos de *Ecdytolopha aurantiana*, bem como de adultos de F₁, em relação à testemunha (sem marcação). Período de parasitismo: 24 horas. Temperatura: $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR: $70\pm 10\%$ e fotofase: 14 horas. Médias seguidas de mesma letra, nas barras, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P\leq 0,05$)

Figura 24- Características da emergência do parasitóide *Trichogramma atopovirilia* em ovos de *Ecdytolopha aurantiana*. A e B- Ovo de *E. aurantiana* contendo um indivíduo de *T. atopovirilia* (50x e 66x); C- Presença de dois indivíduos de *T. atopovirilia* por ovo de *E. aurantiana* (100x); D- Ovo com um orifício no córion após a emergência de um parasitóide; E- Ovo com dois orifícios após a emergência

Com os resultados obtidos na presente pesquisa, foi possível determinar a capacidade de dispersão do parasitóide (item 4.5).

4.4 Determinação da frequência, quantidade e época de liberação de *T. atovirilia* por unidade de área

Na fazenda Entre Rios, entre os meses de abril e junho, foram realizadas 5 liberações do parasitóide; esta frequência de liberação foi determinada pelo número de adultos capturados na armadilha colocada na área de estudo (6 adultos/armadilha/semana), ou seja, quando foi atingido o nível de controle da praga (Bento et al 1991a). Assim, considerando-se que *E. aurantiana* tem um período de pre-oviposição de 2 dias, foram esperados estes 2 dias para que fossem iniciadas as liberações, após a constatação do nível de controle. A quantidade de *Trichogramma* liberada por ponto dependeu do número de ovos/fruto; o número médio de ovos por 100 frutos variou de 37,2 a 44,6; assim, o número médio de parasitóides liberados por hectare foi de aproximadamente 300.000, 490.000 e 810.000 para as proporções de 18:1, 36:1 e 72:1 (parasitóides:ovo da praga).

De acordo com Garcia (1998), os percentuais de parasitismo de *T. pretiosum* (linhagem L₁) por ovo de *E. aurantiana*, variariam de 9,2 a 63,3% para relações de fêmeas do parasitóide:ovo da praga, de 0,8 a 12,8 respectivamente. Em condições de semicampo, o percentual de parasitismo de *T. pretiosum* (linhagem G18) atingiu o ponto máximo de 89,0% com uma proporção estimada de 36 parasitóides por ovo de *E. aurantiana* (Molina 2003). Segundo esta autora, se em condições de campo a quantidade de ovos da praga for alta, serão necessárias liberações com grandes quantidades do parasitóide. Isto é o que se tem observado em frutíferas em outros países. Assim, para o controle de *C. leucotreta* foram liberados 125.000 fêmeas por bloco de 100 árvores, num pomar cítrico na África do Sul, obtendo-se diminuição significativa da população larval da praga e nos danos nas áreas de liberação (Newton 1988). Oatman & Platner (1985) avaliaram a eficiência de controle de *Sabulodes aegrotata*

(Guenée, 1857) e *Amorbia cuneana* (Walsingham, 1879), pragas de abacate na Califórnia, EUA, por *T. platneri* e concluíram que o parasitóide foi eficiente quando foram feitas liberações de 50.000 parasitóides por planta e que pelo menos três liberações semanais foram necessárias para o controle de *S. aegrotata*, enquanto que duas foram necessárias para *A. cuneana*; o parasitismo de *A. cuneana* variou de 51,8 a 70,8% e para *S. aegrotata* foi verificado 80% de parasitismo após as liberações. Para obtenção de parasitismos de 51,8 a 75% em frutíferas, são recomendadas liberações variáveis de 70.000 a 3,8 milhões por hectare de parasitóides ou de 9.000 a 50.000 por planta (Oatman & Platner 1985; Hassan et al. 1988; Newton & Odendaal 1990; Glen & Hoffmann 1997; Mills et al. 2000).

4.4.1 Liberações em período de alta infestação

Após cada liberação, das 5 mencionadas, não foi possível a avaliação da porcentagem de parasitismo, inicialmente prevista pela dificuldade de se encontrar, no campo, ovos de *E. aurantiana* parasitados por *Trichogramma*; assim, optou-se por avaliar a eficiência das liberações mediante o levantamento de frutos com sintomas de dano, levando-se em conta a biologia do inseto (Garcia, 1998).

As médias dos parâmetros climáticos da área experimental durante os meses de liberação foram de 13,0 mm de precipitação pluviométrica, 18,1 e 29,4°C para temperaturas mínima e máxima, respectivamente e 66,7% de umidade relativa. Segundo Smith (1996) o complexo de variáveis meteorológicas afeta o desenvolvimento, emergência, sobrevivência, atividade e fecundidade de *Trichogramma*; o estabelecimento, em campo, de agentes de controle biológico pode ser diretamente influenciado pelos fatores climáticos, principalmente a chuva, quando ela ocorre após a liberação (Norris et al. 2002).

Nas áreas onde liberaram-se 72 parasitóides:ovo a porcentagem de dano foi de 8,60%, inferior às proporções de 18 e 36:ovo e à testemunha, para os quais o percentual de frutos com danos foi de 19,8; 12,3 e 22,6%, respectivamente (Figura 25).

Existem casos de sucesso em frutíferas e florestais utilizando-se *Trichogramma* para o controle de pragas; assim, existem casos bem sucedidos em pomares de maçã para o controle de *C. pomonella* e *A. orana* (Hassan et al. 1988; Mills 2001), em cítricos para o controle de *Cryptophlebia leucotreta* (Meyrick, 1913) (Newton & Odendaal 1990) e para o controle de *Rhyacionia frustrana* (Comstock) em plantações de pinheiro (Orr et al. 2000).

Figura 25- Danos (%) causados por *Ecdytolopha aurantiana* após liberações de *Trichogramma atopovirilia* em diferentes proporções (*T. atopovirilia*:ovo da praga) durante os meses de abril a junho. Fazenda Entre Rios, Gavião Peixoto, SP

Os resultados obtidos neste trabalho demonstram que para as condições climáticas mencionadas e com um nível médio de infestação de 9 adultos/armadilha/semana durante a época em que foram realizadas as liberações, serão necessários aproximadamente 810.000 parasitóides por hectare, correspondentes a 72:1 parasitóide:ovo, para diminuir o nível de danos de *E. aurantiana*, durante os meses de abril e junho. As coletas semanais de 5 frutos/planta nas 100 árvores selecionadas permitiram detectar a presença de posturas do bicho-furão no pomar, determinando assim a quantidade de ovos da praga e o número de parasitóides a ser liberado por ponto. Entretanto, não foi observada uma relação direta entre adultos capturados semanalmente na armadilha com a quantidade de ovos coletados na área experimental e avaliados em laboratório. Assim, tornam-se necessários novos estudos, para acertos metodológicos, no sentido de avaliar a relação existente entre a porcentagem de parasitismo por *Trichogramma*, nível populacional e danos causados por *E. aurantiana* em pomares cítricos.

4.4.2 Liberações em período de baixa infestação

Nos meses de julho a setembro com precipitação pluviométrica de 34,5 mm, com temperatura máxima e mínima de 27,0 e 14,5°C, respectivamente e em condições de infestação artificial em campo, houve um efeito significativo entre o número de parasitóides liberados e a porcentagem de parasitismo. As liberações de 288, 576 e 1152 parasitóides:ovo da praga promoveram os maiores valores de parasitismo que variaram de 50,2 a 59,8% e não diferiram estatisticamente entre si (Figura 26). As outras proporções de parasitóides liberadas foram significativamente inferiores, à exceção de 144 parasitóides:ovo que não diferiu de 288. Houve interação significativa do número de parasitóides liberados e o parasitismo, obtendo-se correlação linear positiva (Figura 27). Constata-se que o parasitismo decresceu à medida que se diminuía o número de parasitóides liberados. Este efeito foi observado até a proporção de 288, a

partir da qual, pode ter ocorrido competição intra-específica. Segundo Knippling (1977) é pouco provável a ocorrência de parasitismos próximos a 100% em condições de campo, já que à medida que se aumenta a densidade dos parasitóides, a probabilidade de um indivíduo encontrar um ovo não parasitado diminui, podendo ocorrer, em muitos casos, superparasitismo. Molina (2003) avaliou, em telado, o percentual de parasitismo de *T. pretiosum* (linhagem G18) sobre *E. aurantiana*, obtendo um comportamento quadrático com o aumento da quantidade de parasitóides liberados por ovo da praga. Esta autora, constatou que na proporção de 36 parasitóides:ovo o parasitismo foi de 89%, concluindo que a partir deste valor houve um decréscimo devido à ocorrência de superparasitismo.

Na área testemunha do presente trabalho não ocorreu parasitismo, mostrando que não existiam espécies do gênero *Trichogramma* na área do experimento, possivelmente pelo uso de produtos químicos para o controle de pragas, resultado similar àquele obtido por Garcia (1998) nos estudos com *T. pretiosum* em pomares cítricos.

Os resultados desta pesquisa foram semelhantes aos obtidos por outros autores que observaram porcentagens de parasitismo entre 60 e 80% para o controle de *C. pomonella* em pomares de maçã (McDougall & Mills 1997) e para *S. aegrotata* e *A. cuneana* pragas do abacateiro (Oatman & Platner 1985).

Os resultados obtidos com infestações de 60 ovos/planta permitiram determinar que as proporções 1152 a 288 parasitóides:ovo foram as mais indicadas para o controle da praga, baseando-se na porcentagem de parasitismo obtido.

Embora sem diferir do tratamento de 144 parasitóides:ovo, o número adequado para liberações é o de 288:ovo, devendo ser testado em campo, com liberações semanais para o controle e/ou redução do nível populacional do bicho-furão, desde que o parasitismo não chega a ser tão elevado (50%).

A porcentagem de predação em campo por formigas apresentou-se elevada, assim, devem ser recomendadas as liberações de adultos do parasitóide, como as realizadas na presente pesquisa.

Figura 26- Porcentagem média de parasitismo após liberações de *Trichogramma atovirilia* para o controle de *Ecdytolopha aurantiana* durante os meses de julho e setembro, com infestações artificiais da praga. Fazenda Nossa Senhora da Paz, Pirassununga, SP

Figura 27- Regressão linear da porcentagem média de parasitismo e proporções de *Trichogramma atopovirilia* liberados para o controle de *Ecdytolopha aurantiana*, durante os meses de julho e setembro, com infestações artificiais da praga. Fazenda Nossa Senhora da Paz, Pirassununga, SP

4.4.2.1 Avaliação do parasitismo sobre posturas em dois substratos de oviposição

Houve variações na porcentagem de parasitismo de *T. atopovirilia* sobre ovos de *E.aurantiana* de 58,6 e 48,4%, quando foram colocados diretamente no fruto ou no substrato de postura (plástico de polietileno), respectivamente. As taxas de parasitismo, provavelmente, foram afetadas pelas condições de umidade e temperatura que afetaram o ressecamento das posturas colocadas no plástico, ocasionando assim alterações no comportamento do parasitóide mediante a rejeição dos ovos por parte das fêmeas.

Figura 28- Ovo de *Ecdytolopha aurantiana*. A- Vista da cima (50x); B e C- Microestrutura do córion na região central (200x); D- Periferia do ovo com estruturas interligadas contendo aerópilas (210x); E- Áreas deprimidas de formato poligonal com aerópilas (210x); F e G- Aerópilas (210x). As setas indicam as aerópilas

Os ovos de *E. aurantiana* são achatados, têm forma circular e são transparentes (Garcia 1998); o córion apresenta esculturações abundantes e com pequenas estruturas de formato irregular; ao redor da área exposta do ovo, formando uma faixa, encontram-se saliências interligadas formando áreas deprimidas de formato poligonal onde estão presentes muitas aerópilas espalhadas nesta região (Figura 28). Esta abundância de aerópilas, é também responsável pelo ressecamento de ovos de *Diatraea saccharalis* Fabricius 1794, dificultando o estudo de *T. galloi* em laboratório (Parra et al. 1999).

Portanto, em estudos de parasitismo de *Trichogramma* sobre ovos de *E. aurantiana* não devem ser colocados os ovos da praga em substratos que não sejam frutos, pois o ressecamento dos ovos poderá alterar o comportamento das fêmeas do parasitóide.

4.5 Capacidade de dispersão de *T. atopovirilia* em pomares cítricos

O medidor manual de contagens por minuto Geiger Mueller, não permitiu a determinação, em campo, do raio efetivo de dispersão dos parasitóides previamente marcados em laboratório e liberados. Assim, foi necessária a utilização de um aparelho com maior precisão e, para viabilizar a determinação, foram recolhidas as amostras de cada distância e levadas ao laboratório para medição da radioatividade por cintilação líquida. Portanto, a técnica de marcação e liberação dos parasitóides permitiu constatar que após 24 h *T. atopovirilia* deslocou-se por até 16 m. Pelos resultados obtidos não existiu diferença entre as marcações dos parasitóides alimentados diretamente com a solução radioativa e os ovos de *E. aurantiana* parasitados por eles no pomar cítrico (Tabela 3); isto, provavelmente, esteja relacionado com a meia-vida do radioisótopo.

Tabela 3. Médias de contagem por minuto (cpm) das marcações de *Trichogramma atopovirilia* com ^{32}P em ovos de *Ecdytolopha aurantiana* em condições de campo, diretamente (adultos marcados) e indiretamente (ovos parasitados no campo)

Tratamentos	Áreas de dispersão	cpm (contagem por minuto)	
		Intervalo de variação	Média
Testemunha	--	3,9 - 4,4	4,07 $\pm$ 0,3
Adultos (marcados)	--	23,7 - 29,3	27,30 $\pm$ 1,6 a
	4m	23,8 - 27,1	25,80 $\pm$ 1,0 a
Ovos (parasitados e marcados no campo)	8m	23,6 - 27,7	25,62 $\pm$ 2,1 a
	12m	21,4 - 29,1	24,70 $\pm$ 2,5 a
	16m	22,3 - 25,3	24,23 $\pm$ 1,1 a

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Kruskal-Wallis ($P \leq 0,05$).

Observou-se uma redução na porcentagem de parasitismo à medida que se distanciava do ponto de liberação do parasitóide. Assim, para uma área de 100 m² (elipse 4x8 m) houve um parasitismo de 52,0%; a partir daí os valores foram decrescentes, sendo de 35,7% para o raio de 8x16 m (402 m²); 16,7% para 12x24 m (904,78 m²) e 0,7% para 16x32m (1608,50 m²). Os resultados da presente pesquisa são similares aos obtidos em estudos de dispersão destes parasitóides em outras culturas nas quais foi observado que o parasitismo decresce aproximadamente do valor de 60% no ponto de liberação para 10% a uma distância 14 m (McDougal & Mills 1997) (Figura 29).

Figura 29- Relação entre a distância de liberação de *Trichogramma atopovirilia* e porcentagem de parasitismo de ovos de *Ecdytolopha aurantiana*. Fazenda Nossa Senhora da Paz, Pirassununga, SP

Houve grande variabilidade dos dados obtidos para as diferentes distâncias, no decorrer das semanas de experimentação (Figura 30); entretanto, esta variação não interferiu para que elas se mantivessem dentro dos limites de confiança do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. As taxas de parasitismo nas diferentes distâncias registradas na presente pesquisa sugerem que os melhores valores ocorreram até 8 metros do ponto de liberação, sendo estes dados próximos aos relatados em outras culturas, cujas distâncias variaram entre 10 e 15 m (Lopes 1998; Sá et al. 1993; McGregor et al. 2000). Em pomares cítricos, García (1998) determinou que a dispersão de *T. pretiosum* utilizando ovos de *A. kuehniella* foi de 11,0 m, embora com um elevado parasitismo visual até 10 m do ponto de liberação.

Os indivíduos da espécie de *T. atopovirilia* em pomares cítricos percorrem uma distância de 10 m por dia, cobrindo assim uma área de 171 m² em 24 horas; baseando-se na equação adaptada do modelo de Dobzhansky & Wright (1943), serão necessários 60 pontos de liberação por unidade de área (ha). Garcia (1998) obteve para *T. pretiosum*, em citros, uma área de dispersão 140,45 m² e 71 pontos de liberação. Esta diferença pode ser atribuída a dois fatores: diferente metodologia utilizada para determinar a dispersão em campo e pela adaptação do modelo matemático para obter uma equação que se adaptasse aos valores deste trabalho. Entretanto, esta diferença não chega a ser significativa para liberações em campo.

Durante a segunda semana de liberação, na área onde foi testada a dispersão no raio de 8 m, observou-se uma notável redução do parasitismo, provavelmente pela aplicação de sulfato de cobre dias antes do experimento. Este já foi registrado por Thomson et al. (2000) em videiras no sudeste da Austrália, que comprovaram o impacto das pulverizações de sulfato de cobre utilizado para o controle de ácaros sobre a emergência e o parasitismo de *T. carverae* e *T. funiculatum*.

Pôde-se assim comprovar a possibilidade da utilização das técnicas de marcação de *Trichogramma* com ³²P, para determinação da sua capacidade de dispersão em condições de campo. Assim, estes resultados abrem perspectivas de estudos com técnicas de marcação com radioisótopos que permitam avaliar o comportamento,

demografia e etologia destes agentes de controle biológico, amplamente utilizados pela grande eficiência que apresentam no controle de pragas agrícolas.

Figura 30- Relação entre a distância de liberação de *Trichogramma atopovirilia* e porcentagem de parasitismo em ovos de *Ecdytolopha aurantiana* durante 5 semanas. A- Semana 1; B- Semana 2; C- Semana 3; D- Semana 4; E- Semana 5. Fazenda Nossa Senhora da Paz, Pirassununga, SP

5 CONCLUSÕES

- *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 é a espécie com maior potencial para o controle biológico de *Ecdytolopha aurantiana* (Lima, 1927);
- Na faixa de 10 a 35°C, as fêmeas de *T. atopovirilia* aumentam o parasitismo a partir de 2 horas de exposição;
- Temperaturas extremas (10, 15 e 35°C) provocam estresse no parasitóide, reduzindo o seu parasitismo;
- A faixa de maior atividade de *T. atopovirilia* está entre 20 e 30°C;
- O fornecimento de alimento (mel puro) para adultos de *T. atopovirilia* aumenta a eficiência de parasitismo e sua longevidade;
- Ovos, preferencialmente de 24 horas, de *E. aurantiana* são preferidos para o parasitismo por *T. atopovirilia*; este resultado é básico para a produção massal e para definição de época de liberação do parasitóide em campo.
- A marcação de *T. atopovirilia* com ^{32}P , na dosagem utilizada, não afeta a aceitação e parasitismo dos ovos de *E. aurantiana* e o desenvolvimento dos parasitóides na geração subsequente;

- A metodologia utilizada não permitiu a visualização de ovos parasitados no campo, embora deva ser definido o número de parasitóides a ser liberado em função do número de ovos de *E. aurantiana* encontrado em campo;
- O número de parasitóides de *T. atopovirilia* a ser liberado é variável dependendo da época do ano, sendo necessários 72 e 288 parasitóides por ovo, nos períodos de abril a junho e de julho a setembro, respectivamente;
- O resecamento de ovos de *E. aurantiana* mantidos em substratos artificiais, devido ao grande número de aerópilas presente nestes ovos, afeta o comportamento do parasitóide, reduzindo a capacidade de parasitismo em condições de campo;
- O raio de dispersão de *T. atopovirilia* marcado com ^{32}P só pode ser medido em cintilador líquido, não sendo possível a detecção do inseto marcado com medidor manual Geiger Mueller;
- A porcentagem de parasitismo de *T. atopovirilia* diminui à medida que aumenta a distância do ponto de liberação;
- O maior parasitismo de *T. atopovirilia* ocorre de 8 a 10 m do ponto de liberação, correspondente a uma área de dispersão do parasitóide de 171 m² em 24 h;
- Com base na dispersão de *T. atopovirilia*, são necessários 60 pontos de liberação por ha.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABECITRUS. <http://www.abecitrus.com.br>. 2003

ABLES, J.R.; MCCOMMAS, D.W.; JONES S.L.; MORRISON, R.K. Effect of cotton plant size, host egg location, and location of parasite release on parasitism by *Trichogramma pretiosum*. **Southwestern Entomologist**, v.5, p.261-264, 1980.

ALTIERI, M.A.; ANNAMALAI, S.; KATYAR, K.P.; FLATH, R.A. Effects of plant extracts on the rates of parasitization of *Anagasta kuehniella* (Lep.:Pyralidae) eggs by *Trichogramma pretiosum* (Hym.: Trichogrammatidae) under greenhouse conditions. **Entomophaga**, v.27, p.431-438, 1982.

ANDOW, D.A.; PROKRYM, D.R. Releases density, efficiency and disappearance of *Trichogramma nubilale* for control of European corn borer. **Entomophaga**, v.36, p.105-113, 1991.

ARTHUR, V.; WALDER, J. M. M.; WIENDL, F. M.; PRECETTI, A. C. A. M.; TERÁN, O. F.; HENRIQUE, B. C. Dispersão de adultos de *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Col.: Curculionidae) em cana-de-açúcar marcados com ³²P. **Energia Nuclear e Agricultura**, v.8, n.1/2, p.79-86, 1987.

BELLAMY, D.E.; BYRNE, D.N. Effects of gender and mating status on self-directed dispersal by the whitefly parasitoid *Eretmocerus eremicus*. **Ecological Entomology**, v.26, p.571-577, 2001.

- BENTO, J.M.S.; VILELA, E.F.; PARRA, J.R.P.; LEAL, W.S. Monitoramento do bicho-furão-dos-citrus com feromônio sexual: bases comportamentais para utilização dessa nova estratégia. **Laranja**, v.22, p.351-366, 2001a.
- BENTO, J.M.S.; PARRA, J.R.P.; VILELA, E.F.; LEAL, W.S. Sexual behavior and diel activity of citrus fruit borer *Ecdytolopha aurantiana*. **Journal of Chemical Ecology**, v.27, n.10, p.2053 – 2065, 2001b.
- BIGLER, F. Mass production of *Trichogramma maidis* Pint. et Voeg. and its field application against *Ostrinia nubilalis* Hbn. in Switzerland. **Journal of Applied Entomology**, v.101, p.23-29, 1986.
- BIGLER, F. Quality control in *Trichogramma* production. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S.A. (Ed.). **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: CAB, 1994. p. 93-112.
- BIGLER, F.; BRUNETTI, R. Biological control of *Ostrinia nubilalis* Hbn. by *Trichogramma maidis* Pint. et Voeg. on corn for seed production in southern Switzerland. **Journal of Applied Entomology**, v.102, p.303-308, 1986.
- BLEICHER, E. Biologia e exigências térmicas de populações de *Trichogramma* (Hym.: Trichogammatidae). Piracicaba, 1985. 80p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- BLEICHER, E.; PARRA, J.R.P. Efeito do hospedeiro de substituição e da alimentação na longevidade de *Trichogramma* sp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.26, p.1845-1850, 1991.

- BOTELHO, P.S. Eficiência de *Trichogramma* em campo. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). ***Trichogramma e o controle biológico aplicado***. Piracicaba: FEALQ, 1997. p.303-318.
- BROURCHIER, R.S.; SMITH, S.M. Influence of environmental conditions and parasitoid quality on field performance of *Trichogramma minutum*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.80, p.461-468, 1996.
- BRUNNER, J.F.; DUNLEY, J.E.; DOERR, M.D.; BEERS, E.H. Effect of pesticides on *Colpoclypeus florus* (Hymenoptera:Eulophidae) and *Trichogramma platneri* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), parasitoids of leafrollers in Washington. **Journal of Economic Entomology**, v.94, n.5, p.1075-1084, 2001.
- BULL, D.L.; HOUSE, V.S. Effects of different pesticides on parasitism of host eggs by *Trichogramma pretiosum* Riley. **Southwest Entomology**, n.8, p.46-53, 1983.
- BURBUTIS, P.P.; KOEPKE, C.H. European corn borer control in peppers by *Trichogramma nubilale*. **Journal of Economic Entomology**, v.74, p.246-247, 1981.
- CALVIN, D.D.; KNAPP, M.C.; WELCH, S.M.; POSTON, F.L.; ELZINGA, R.J. Impact of environmental factors on *Trichogramma pretiosum* reared on southwestern corn borer eggs. **Environmental Entomology**, v.13, n.3, p.774-780, 1984.
- CARVALHO, D.R. Comparação de métodos de monitoramento e controle do bicho-furão, *Ecdytoplopha aurantiana* (Lima, 1927) (Lepidoptera: Tortricidae) em citros. Piracicaba, 2003. 38p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

- CHEN, C.C.; CHANG, K.P. Marking *Trichogramma ostriniae* Pang and Chen (Hymenoptera: Trichogrammatidae) with radioactive phosphorus. **Chinese Journal of Entomology**, v.11, p.148-153, 1991.
- CÔNSOLI, L.F.; PARRA, J.R.P. Biology of *Trichogramma galloi* and *T. pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared in vitro and in vivo. **Annals of the Entomological Society of America**, v.89, n.6, p.828-834, 1996.
- CÔNSOLI, L.F.; ROSSI, M.M.; PARRA, J.R.P. Developmental time and characteristics of the immature stages of *Trichogramma galloi* and *T. pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.43, n.3/4, p.271-275, 1999.
- DEGRANDE, P. E.; REIS, P. R.; CARVALHO, A.; BELARMINO, L. Metodologia para avaliar o impacto de pesticidas sobre inimigos naturais. IN: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.). **Controle Biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. cap.5, p. 71-86.
- DE LA TORRE, S.L. *Trichogramma: Biología, sistemática y aplicación*. La Habana: Editorial Científico Técnica, 1993. 316p.
- DOBZHANSKY, T.; WRIGHT, S. Genetics of natural populations x Dispersion rates in *Drosophila pseudoobscura*. **Genetics**, v.28, p.304-340, 1943.
- FERNANDES, O.A. O uso de marcadores no controle biologico. IN: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.). **Controle Biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. cap.7, p. 115-123.
- FERNANDES, O.A.; WRIGHT, R.J.; BAUMGARTEN, K.H. AND MAYO, Z.B. Use of Rubidium to label *Lysiphlebus testaceipes* (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid

of greenbugs (Homoptera: Aphididae), for dispersal studies. **Environmental Entomology**, v.26, p.1167-1172, 1997.

FNP CONSULTORIA & AGROINFORMATIVOS **AGRIANUAL 2004**. Anuário da agricultura brasileira. São Paulo, 2004. p.241-268.

FOERSTER, L. A. Seletividade de pesticidas a predadores e parasitóides. IN: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.). **Controle Biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. cap.6, p.95-1033.

FONSECA, J.P. DA. Combate à lagarta das laranjas, *Gymnandrosoma aurantianum* Costa Lima. **Chácaras e Quintais**, v.50, p.215-216, 1934.

FORSSE, E.; SMITH, S.M.; BOURCHIER, R.S. Flight initiation in the egg parasitoid *Trichogramma minutum*: Effects of ambient, temperature, mates, food and host eggs. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.62, p.147-154, 1992.

FUENTES, F.S. **Producción y uso de *Trichogramma* como regulador de plagas**. Lima: Red de Acción en Alternativas al uso de Agroquímicos (RAAA), 1994. 193p.

FUNDECITRUS. Tecnologia contra o bicho-furão. **Revista do Fundecitrus**, n.96, p.8-10, 2000.

FUNDECITRUS. <http://www.fundecitrus.com.br/bfurao.html>. 2003.

FUNDECITRUS. Mapeamento estratégico: com o uso de armadilhas de monitoramento, pesquisadores estudam o comportamento do bicho furão e auxiliam citricultores. **Revista do Fundecitrus**, n.122, p.4-5, 2004.

- GARCIA-SALAZAR, C.; LANDIS, D.A. Marking *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) with fluorescent marker dust and its effect on survival and flight behavior. **Journal of Economic Entomology**, v.90, n.6, p.1546-1550, 1997.
- GARCIA, M.S. Bioecologia e potencial de controle biológico de *Ecdyolopha aurantiana* (Lima 1927) (Lepidoptera: Tortricidae), o bicho-furão-dos-citrus, através de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879. Piracicaba, 1998. 118p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- GARCIA, M.S.; PARRA, J.R.P. Comparação de dietas artificiais, com fontes protéicas variáveis, para a criação de *Ecdyolopha aurantiana* (Lima 1927) (Lepidoptera: Tortricidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.28, n.2, p.219-232, 1999.
- GLENN, D.C.; HOFFMANN, A.A. Developing a commercially viable system for biological control of light brown apple moth (Lepidoptera: Tortricidae) in grapes using endemic *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Journal of Economic Entomology**, v.90, n.2, p. 370-382, 1997.
- GOMES, S.M. Comparação de três hospedeiros alternativos para criação e produção massal de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 e *T. galloi* Zucchi, 1988. Piracicaba, 1997. 106p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- GURR, G. M.; NICOL, H. I. Effect of food on longevity of adults of *Trichogramma carverae* Oatman and Pinto and *Trichogramma nr brassicae* Bezdenko (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Australian Journal of Entomology**, v.39, p.185-187, 2000.

- HAGLER, R.J.; JACKSON, C.G. An immunomarking technique for labeling minute parasitoids. **Environmental Entomology**, v.27, n.4, p.1010-1016, 1998.
- HAGLER, R.J.; JACKSON, C.G. Methods for marking insects: Current techniques and future prospects. **Annual Review Entomology**, v.46, p.511-543, 2001.
- HAJI, F.N.D.; PREZOTTI, L.; CARNEIRO, J.S.; ALENCAR, J.A. *Trichogramma pretiosum* para o controle de pragas no tomateiro industrial. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. cap.28, p.477-494.
- HASSAN, S.A. Strategies to select *Trichogramma* species for use in biological control. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S.A. (Ed.) **Biological control with egg parasitoids**. CAB, Wallingford: 1994. p.55-73.
- HASSAN, S.A. Seleção de espécies de *Trichogramma* para o uso em programas de controle biológico. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed). ***Trichogramma e o controle biológico aplicado***. Piracicaba: FEALQ, 1997. cap. 7, p.183-206.
- HASSAN, S.A.; GUO, M.F. Selection of effective strains of egg parasitoids of the genus *Trichogramma* (Hym.: Trichogrammatidae) to control the European corn borer *Ostrinia nubilalis* Hünber, (Lep.: Pyralidae). **Journal of Applied Entomology**, v.111, p.335-341, 1994.
- HASSAN, S.A. Selection of suitable *Trichogramma* strains to control the codling moth *Cydia pomonella* and the two summer fruit tortrix moths *Adoxophyes orana*, *Pandemis heparana* (Lep.: Tortricidae). **Entomophaga**, v.34, n.1, p. 19-27, 1989.

- HASSAN, S.A. The mass rearing and utilization of *Trichogramma* to control lepidopterus pests: achievements and outlook. **Journal of Pesticide Science**, v.37, p.387-391, 1993.
- HASSAN, S.A.; KOHLER, E.; ROST, W.M. Mass production and utilization of *Trichogramma*: 10. Control of the codling moth *Cydia pomonella* and the summer fruit tortrix moth *Adoxophyes orana* (Lep.: Tortricidae). **Entomophaga**, v.33, p.413-420, 1988.
- HENDRIKS, D.E. Effect of wind on dispersal of *Trichogramma semifumatum*. **Journal of Economic Entomology**, v.60, n.30, p.1367-1373, 1967.
- HINTZ, J. L.; ANDOW, D. A. Host age and host selection by *Trichogramma nubilale*. **Entomophaga**, n.35, v.1, p.141-150, 1990.
- INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY (IAEA). Laboratory training manual on the use of isotopes and radiation in entomology. Technical reports series No.61. 2.ed. Vienna, 1977. 144p.
- JACOBS, R.J.; KOUSKOLEKAS, C.A.; GROSS, H.R. Responses of *Trichogramma pretiosum* (Hym.: Trichogrammatidae) to residues of permethrin and endosulfan. **Environmental Entomology**, v.13, p.355-358, 1984.
- JOHNSON, S.J. Low-level augmentation of *Trichogramma pretiosum* and naturally occurring *Trichogramma* spp. Parasitism of *Heliothis* spp. in cotton in Louisiana. **Environmental Entomology**, v.14, n.1, p.28-31, 1985.
- KANOUR, W.W.; BURBUTIS, P.P. *Trichogramma nubilale* (Hym.:Trichogrammatidae) field releases in corn and a hypothetical model for control of European corn borer (Lep.: Pyralidae). **Journal of Economic Entomology**, v.77, p.103-107, 1984.

- KELLER, M.A.; LEWIS, W.J.; STINNER, R.E. Biological and practical significance of movement by *Trichogramma* species: a review. **Southwest Entomology**, v.8, p.138-155, 1985.
- KING, E.G.; BULL, D.L.; BOUSE, L.R.; PHILLIPS, J.R. Introduction: Biological control of *Heliothis* spp. in cotton by augmentative releases of *Trichogramma*. **Southwest Entomology**, v.8, p.-10, 1985a.
- KING, E.G.; COLEMAN, R.J.; PHILLIPS, J.R.; DICKERSON, W.A. *Heliothis* spp. and selected natural enemy populations in cotton: a comparison of three insect control programs in Arkansas (1981-82) and North Carolina (1983). **Southwest Entomology**, v.8, p.71-98, 1985b.
- KNIPLING, E. F. The theoretical basis for augmentation of natural enemies. In: RIDGWAY, R. L.; VINSON, S. B. (Ed.). **Biological control by augmentation of natural enemies**. New York: Plenum Press, 1977. cap.3, p.79-123.
- KRISHNAMOORTHY, A.; SINGH, S.P. Record of the egg parasite, *Trichogramma chilonis* on *Papilio* spp. in *citrus*. **Current Science**, v,55, n.9, p.461, 1986.
- KUSKE, S.; WIDMER, F.; EDWARDS, P.J.; TURLINGS, T.C.J.; BABENDREIER, D.; BIGLER, F. Dispersal and persistence of mass released *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in non-target habitats. **Biological Control**, v.27, p.181-193, 2003.
- L'ANNUNZIATA, M.F.; LEGG, J.O. **Isotopes and radiation in agricultural sciences**. Academic Press, 1984. v.2, 101p.

- LEAL, W.S.; BENTO, J.M.S.; MURATA, Y.; ONO, M.; PARRA, J.R.P.; VILELA, E.F. Identification, synthesis, and field evaluation of the sex pheromone of the citrus fruit borer *Ecdytolopha aurantiana*. **Journal of Chemical Entomology**, v.27, n.10, p.2041-2051, 2001.
- LEATEMIA, J.A.; LAING, J.E. AND CORRIGAN, J.E. Effects of adult nutrition on longevity, fecundity, and offspring sex ratio of *Trichogramma minutum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **The Canadian Entomologist**, v.127, p.245-254, 1995.
- LI, L.Y. Worldwide use of *Trichogramma* for biological control on different crops: A survey. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S.A. (Ed.) **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: CAB,1994. cap.2, p.37-53.
- LI, S.Y.; HENDERSON, D.E.; MYERS, J.H. Selection of suitable *Trichogramma* species for potential control of the blackheaded fireworm infesting cranberries. **Biological Control**, v.4, p.244-248, 1994.
- LI, S.Y.; SIROIS G.M.; LUCZYNSKI A.; HENDERSON D.E. Indigenous *Trichogramma* (Hym.: Trichogrammatidae) parasiting eggs of *Rhopobota naevana* (Lep.: Tortricidae) on cranberries in British Columbia. **Entomophaga**, v. 38, p.313-315, 1993.
- LIMA, A DA C. Sobre um novo microlepidóptero, cuja lagarta é praga das laranjeiras no Distrito Federal. **Chácaras e Quintais**, v.36, p.33-35, 1927.
- LIMA, A DA C. Insetos do Brasil: Lepidópteros. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Agronomia, v.1, p.325-353, 1945.
- LOPES, J.R.S. Estudos bioetológicos de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hym., Trichogrammatidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lep.,

Pyralidae). Piracicaba: 1988. 141p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

LOPES, J.R.S.; PARRA, J.R.P. Efeito da idade de ovos do hospedeiro natural e alternativo no desenvolvimento e parasitismo de duas espécies de *Trichogramma*. **Revista de Agricultura**, v. 66, n.3, p. 221-242, 1991.

MCDUGALL, S.J.; MILLS, N.J. Dispersal of *Trichogramma platneri* Nagarkatti (Hym., Trichogrammatidae) from point-source releases in an apple orchard in California. **Journal Applied Entomology**, v.121, p.205-209, 1997.

MCDUGALL, S.J.; MILLS, N.J. The influence of hosts, temperature and food sources on the longevity of *Trichogramma platneri*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.83, p.195-203, 1997.

MCGREGOR, R.; HUEPPELSHEUSER, T.; LUCZYNSKI, A.; HENDERSON, D. Collection and evaluation of *Trichogramma* species (Hymenoptera: Trichogrammatidae) as biological controls of the oblique-banded beafroller, *Choristoneura rosaceana* (Harris) (Lepidoptera: Tortricidae) in raspberries and blueberries. **Biological Control**, v.11, p.38-42, 1998.

MCGREGOR, R.; CADDICK, G.; HENDERSON, D. Eggs loads and egg masses: Parasitism of *Choristoneura rosaceana* eggs by *Trichogramma minutum* after inundative release in comercial blueberry field. **BioControl**, v.45, p.257-268, 2000.

MILLS, N.J. Augmentation in orchards: Improving the efficacy of *Trichogramma* inundation. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BIOLOGICAL CONTROL OF

ARTHROPODS, 1, Honolulu, Hawaii, EUA, January 14-18, 2002.
www.bugwood.org/arthropod/day2/mills.pdf.

MILLS, N.; PICKEL, C.; MANSFIELD, S.; MCDUGALL, S.; BUCHNER, R.; CAPRILE, J.; EDSTROM, J.; ELKIMS, R.; HASEY, J.; KELLEY, K.; KRUEGER, B.; OLSON, B.; STOCKER, R. Mass releases of *Trichogramma* wasps can reduce damage from codling moth. **California Agriculture**, v.56, n.6, p.22-25, 2000.

MOLINA, R.M.S. Bioecologia de duas espécies de *Trichogramma* para o controle de *Ecdytolopha aurantiana* (Lima, 1927) (Lepidoptera: Tortricidae) em citros. Piracicaba, 2003. 80p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

NAKANO, O.; SOARES, M.G. Bicho-furão: Biologia, hábitos e controle. **Laranja**, v.16, n.1, p. 209-221, 1995.

NAKANO, O.; LEITE, A.C. Avaliação do ataque do bicho-furão em função de parâmetros climáticos. **Laranja**, v.19, n.1, p. 39-47, 1998.

NEWTON, P.J. Movement and impact of *Trichogrammatoidea cryptophlebiae* Nagaraja (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in citrus orchards after inundative releases against the false codling moth, *Cryptophlebia leucotreta* (Meyrich) (Lepidoptera: Tortricidae). **Bulletin of Entomological Research**, v.78, n.1, p.85-99, 1988.

NEWTON, P.J.; ODENDAAL, W.J. Commercial inundative releases of *Trichogrammatoidea cryptophlebiae* (Hym: Trichogrammatidae) against *Cryptophlebia leucotreta* (Lep.: Tortricidae) in *Citrus*. **Entomophaga**, v. 35, n. 4, p.545-556, 1990.

- NORRIS, R. J.; MEMMOTT, J.; LOVELL, D.J. The effect of rainfall on the survivorship and establishment of a biocontrol agent. **Journal of Applied Ecology**, n.39, p. 226-234, 2002.
- OATMAN, E.R.; PLATNER, G.R. Biological control of two avocado pests. **California Agriculture**, v.39, n.11/12, p.21-23, 1985.
- ORR, D.V.; SUH, C.P.C.; MCCRAVY, K.W.; BERISFORD, C.W.; DEBARR, G.L. Evaluation of inundative release of *Trichogramma exiguum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) for suppression of nantucket pine tip moth (Lepidoptera: Tortricidae) in pine (Pinaceae) plantations. **The Canadian Entomologist**, v.132, p.373-386, 2000.
- PAK, G.A.; VAN HEININGEN, T.G. Behavioural variations among strains of *Trichogramma* spp.: adaptability to field-temperature conditions. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.38, p.3-13, 1985.
- PAK, G. A. Behavioural variations among strains of *Trichogramma* spp. A review of the literature on host-age selection. **Journal of Applied Entomology**, v.101, p.55-64, 1986.
- PARRA, J.R.P. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997. cap 4. p. 121-150.
- PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R. A. O uso de *Trichogramma* no controle de pragas. In: NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). Atualização sobre métodos de controle de pragas. Piracicaba: FEALQ, 1986. p.54-75.
- PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; SILVEIRA NETO, S.; HADDAD, M.L. Biology and thermal requirements of *Trichogramma galloi* Zucchi and *T. distinctum* Zucchi, on two

- alternatives hosts. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON *TRICHOGRAMMA* AND OTHER EGG PARASITOIDS, 3., San Antonio, 1990. Paris: INRA, 1991. p.81-84. (Les Colloques INRA, 56).
- PARRA, J.R.P.; MILANO, P.; CÔNSOLI, F.L.; ZÉRIO, N.G. Efeito da nutrição de adultos e da umidade na fecundidade de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.28, n.1, p.49-57, 1999.
- PARRA, J.R.P.; KASTEN JUNIOR., P; MOLINA, R.M.S.; HADDAD, M.L. Efeito do pH no desenvolvimento do Bicho-furão. **Laranja**, v.22, n.2, p.299-320, 2001.
- PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. Controle Biológico uma visão inter e multidisciplinar. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. cap.8, p.125-142.
- PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R. A. *Trichogramma* in Brazil: Feasibility of use after twenty years of research. **Neotropical Entomology**, v.33, n.3, p. 271-281, 2004.
- PARSELL, D.A.; LINDQUIST, S. The function of heat-shock proteins in stress tolerance: degradation and reactivation of damaged proteins. **Annual Review of Genetics**, v.27, p.437-496, 1993.
- PAZINI, W.C.; BUSOLI, A.C. Eficiência de inseticidas no controle de bicho-furão-dos-citros *Ecdytolopha aurantiana* (Lepidoptera: Tortricidae) . In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 16., Salvador, 1997. **Resumos**. Salvador: SEB, p.181.
- PINTO, A. Comparação de técnicas de liberação e parasitismo de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988, em infestações de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794), prejudiciais à

cana-de-açúcar. Piracicaba: 1999. 83p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

PINTO, J.D. Taxonomia de Trichogrammatidae (Hymenoptera) com ênfase nos gêneros que parasitam Lepidoptera. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997. cap 1. p.13-39.

PINTO, J.D.; STOUTHAMER. R. Systematics of the Trichogrammatidae with emphasis on a *Trichogramma*. In: Wajnberg, E.; Hassan, S.A. (Eds.). **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: CAB, 1994. p.2-36.

PINTO, W.B.S. “Bicho-furão” considerado hoje uma das principais pragas da nossa citricultura. **Laranja & Cia**, n.38, p.4-5, 1994.

PINTO, W.B.S. Mariposa-da-laranja ou bicho-furão: uma praga que está aumentando na citricultura. **Laranja**, v.16, n.1, p.243-250, 1995.

PINTO, W.B.S. “Bicho-Furão”: catação reduz infestação. **Laranja & Cia**, n.44, p.13, 1996.

POWEL, J.A.; RASOWSKI, J.; BROWNN, R.L. Olethreutinae. In: HEPPNER, J.B. (Ed.) **Atlas of Neotropical Lepidoptera**. Gainesville: Association for Tropical Lepidoptera, 1995.

PRASAD, R. P.; ROITBERG, B. D.; HENDERSON, D. The effect of rearing temperature on flight initiation of *Trichogramma sibericum* Sorkina at ambient temperatures. **Biological Control**, v.16, p.291-298, 1999.

- PRATES, H.S.; PINTO, W.B.S. Ocorrência da mariposa das laranjas (*Gymnandrosoma aurantianum* Lima, 1927) na citricultura paulista. **Laranja**, v.9, n.1, p.117-124, 1988.
- PRATES, H.S.; PINTO, W.B.S. “Bicho furão” – um grave problema para a citricultura paulista. **Laranja**, v. 12, n. 2, p. 425 – 434, 1991.
- PRATES, H.S.; PINTO, W.B.S. Controle associado do “Bicho-furão” em pomares cítricos. **Laranja**, v. 13, n. 2, p. 625 – 634, 1992.
- PRATES, H.S.; PINTO, W.B.S.; CAETANO, A.A. Controle da “mariposa das laranjas” - *Gymnandrosoma aurantianum* Lima, 1927 (Lepidoptera, Olethreutidae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 6., Recife, 1995. **Anais**. Recife: SBF. v.2, p. 552-557.
- PRATISSOLI, D. Bioecologia de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879, nas traças, *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick, 1917) e *Phthorimaea operculata* (Zeller, 1873), em tomateiro. Piracicaba: 1995. 135p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- PRATISSOLI, D.; PARRA, J.R.P. Desenvolvimento e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley, criados em duas traças do tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.7, p. 1281 – 1288, 2000.
- PRATISSOLI, D.; PARRA, J.R.P. Seleção de linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle das traças *Tuta absoluta* (Meyrick) e *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Neotropical Entomology**, v.30, n.2, p. 277-282, 2001.
- PRATISSOLI, D.; OLIVEIRA, H. N.; VIEIRA, S. M. J.; OLIVEIRA, R. C.; ZAGO, H. B. Efeito da disponibilidade de hospedeiro e de alimento nas características biológicas de

- Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.48, n.1, p.101-104, 2004.
- PREZOTTI, L.; PARRA, J.R.P. Controle de qualidade em criações massais de parasitóides e predadores. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. cap.17, p.295-311.
- PREZOTTI, L.; PARRA, J.R.P.; VENCovsky, R.; COELHO, A.S.G.; CRUZ, I. Effect of the size of the founder population on the quality of sexual populations of *Trichogramma pretiosum*, in laboratory. **Biological Control**, v.30, p.174-180, 2004.
- QUERINO, R.B. Taxonomia do gênero *Trichogramma* Westwood, 1933 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) na América do Sul. Piracicaba, 2002. 214p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- REDFERN JUNIOR., J.W.; DI GIÁCOMO, O.A.S. Conheça o bicho-furão para controlá-lo melhor. **Informativo Coopercitrus**, n.52, p. 12-14, 1991.
- REZNIK, S. Y.; UMAROVA, T. Y. The influence of host's age on the selectivity of parasitism and fecundity of *Trichogramma*. **Entomophaga**, v.35, n.1, p.31-37, 1990.
- REZNIK, S. Y.; UMAROVA, T. Y.; VOINOVICH, N. D. The influence of previous host age on current host acceptance in *Trichogramma*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.82, p.153-157, 1997.

- RUBERSON, J. R.; KRING, T. J. Parasitism of developing eggs by *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae): Host age preference and suitability. **Biological Control**, v. 3, p. 39-46, 1993.
- SÁ, L. A. N.; PARRA, J. R. P.; SILVEIRA NETO, S. Capacidade de dispersão de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 para o controle de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) em milho. **Scientia Agricola**, v.50, n.2, p.226-231, 1993.
- SCHULTZ, E.T. La mariposa de los naranjos (*Gymnandrosoma* sp.). **Revista Industrial Agrícola de Tucuman**, v.29, p.87-90, 1939.
- SMITH, S.M. Methods and timing of releases of *Trichogramma* to control of lepidopterous pests. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S.A. (Eds.), **Biological control with egg parasitoids**. CAB: Wallingford, 1994. cap. 6, p.113-144.
- SMITH, S.M. Biological Control with *Trichogramma*: advances, successes, and potencial of their use. **Annual Review of Entomology**, v.41, p.375-406, 1996.
- SMITH, S.M.; WALLACE, D.R. Ground systems for releasing *Trichogramma minutum* Riley in plantation forests. **Memoirs of the Entomological Society of Canada**, v.153 p.31-37, 1990.
- SMITH, S. M.; HUBBES, M.; CARROW, J. R. Factors affecting inundative releases of *Trichogramma minutum* Ril. against the spruce budworm. **Journal of Applied Entomology**, v.101, p.29-39, 1986.
- SMITH, S.M.; CARROW, J.R.; LAING, J.E. (Ed.). Inundative releases of the egg parasitoid, *Trichogramma minutum* (Hym.: Trichogrammatidae) against forest insects pest such

as the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lep.: Tortricidae): The Ontario Project 1982 – 1986. **Memoirs of the Entomological Society of Canada**, v.153, p1-87, 1990.

STEIN, C.P.; PARRA, J.R.P.. Aspectos bioecologicos de *Trichogramma* sp. Em diferentes hospedeiros. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.16, n.1, p.163-169, 1987a

STEIN, C.P.; PARRA, J.R.P. Uso da radiação ultra-violeta para inviabilizar ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller 1879) visando estudos com *Trichogramma* sp. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.16, n.1, p.229-231, 1987b.

STERN, V.M; SCHLINGER, E.I.; BOWEN, W.R. Dispersal studies of *Trichogramma semifumatum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) tagged with radioactive phosphorus. **Annals of Entomological Society of America**. v.58, n.2, p. 234-240, 1965.

STOUTHAMER, R.; PINTO, J.D.; PLATNER, G.R.; LUCK, R.F. Taxonomic status of thelytokous forms of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v.83, n.3, p.475-481, 1990.

TAVARES, F.M.; GOULART, R.M.; LEITE, L.G.; BÚSSOLA, R.A.; MACHADO, L.A.; BATISTA FILHO, A. Subsídios para o controle do bicho-furão, *Ecdytolopha aurantiana*. (Lepidoptera: Olethreutidae) – pelo nematóide *Heterorhabditis* sp. (Nematoda: Rhabditida). In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 16., São Paulo, 2003.

THOMSON, J. L.; GLENN, D.C.; HOFFMANN, A.A. Effects of sulfur on *Trichogramma* egg parasitoids in vineyards: measuring toxic effects and establishing release windows. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.40, p.1165-1171, 2000.

- VINSON, S.B. Comportamento de seleção hospedeira de parasitóides de ovos, com ênfase na família Trichogrammatidae. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997. cap.3, p.67-119.
- WHITE, G.L. Outbreak de *Ecdytolopha aurantiana* (Lima) on *Citrus* in Trinidad. **FAO Plant Protection Bulletin**, v.41, n.2, p. 130-132, 1993.
- WRIGHT, M.G.; HOFFMANN, M.P.; CHENUS, S.A.; GARDNER, J. Dispersal behavior of *Trichogramma ostriniae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in sweet corn fields: implications for augmentative releases against *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Biological Control**, v.22, p.29-37, 2001.
- WÜHRER, B.G.; HASSAN, S.A. Selection of effective species/strains of *Trichogramma* (Hym., Trichogrammatidae) to control the diamondback moth *Plutella xylostella* L. (Lep., Plutellidae). **Journal of Applied Entomology**, v.116, p.80-89, 1993.
- YU, D.S.K.; HAGLEY, E.A.C.; LAING, J.E. Biology of *Trichogramma minutum* Riley collected from apples in southern Ontario. **Environmental Entomology**, v.13, n.5, p. 1325-1329, 1984a.
- YU, D.S.K.; LAING, J.E.; HAGLEY, E.A.C. Dispersal of *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in apple orchard after inundative releases. **Environmental Entomology**, v.13, n.5, p.1325-1329, 1984b.
- ZUCCHI, R.A.; SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O. Guia de identificação de pragas agrícolas. Piracicaba: FEALQ, 1993. 139p.

ZUCCHI, R.A.; MONTEIRO, R.C. O gênero *Trichogramma* na América do Sul. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed). ***Trichogramma e o controle biológico aplicado***. Piracicaba: FEALQ, 1997. cap 2. p. 41-66.