

Temperatura e tempo de refrigeração de pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) afetam parâmetros biológicos de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae)?

Temperature and refrigeration time of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) pupae affect biological parameters of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae)?

Patrik Luiz Pastori^{1*}; José Cola Zanuncio²; Fabricio Fagundes Pereira³; Dirceu Pratissoli⁴; Paulo Roberto Cecon²; José Eduardo Serrão²

Resumo

O desenvolvimento de parasitoides em hospedeiros conservados em baixa temperatura, sem perda da qualidade, é importante para criações massais e, por isso, a reprodução de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) foi avaliada em pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) após armazenamento a 0°C ou 5°C. No experimento um, pupas de *A. gemmatalis*, com até 24 horas de idade, foram armazenadas a 0°C, 5°C ou 25°C (testemunha) por um, três, seis, nove ou 12 dias e expostas ao parasitismo por 10 fêmeas de *T. diatraeae* por 24 horas. No experimento dois, pupas de *A. gemmatalis*, com até 24 horas de idade foram expostas ao parasitismo por 10 fêmeas de *T. diatraeae* por 24 horas e, posteriormente mantidas a 25°C até o parasitoide atingir o estágio de pupa, quando foram armazenados a 0°C, 5°C ou 25°C (testemunha) por um, três, seis, nove ou 12 dias. No experimento um, o parasitismo de *T. diatraeae* em pupas armazenadas de *A. gemmatalis* foi superior a 90%, exceto a 25°C por 12 dias. A emergência, o número de indivíduos e a longevidade dos descendentes machos e fêmeas da geração F1 reduziram com o armazenamento (0°C ou 5°C). No experimento dois, o armazenamento de parasitoides a 5°C por um dia aumentou a emergência, não alterou o período de duração do ciclo de vida com o número de indivíduos semelhante a testemunha. A razão sexual e a largura da cápsula cefálica de machos e de fêmeas de *T. diatraeae* foram semelhantes a testemunha nos experimentos. Armazenar a frio (0°C ou 5°C) pupas de *A. gemmatalis* não parasitadas ou contendo o estágio imaturo (pupa) do parasitoide no seu interior, por mais de um dia, afeta negativamente a reprodução de *T. diatraeae*.

Palavras-chave: Parasitoides, criação massal, armazenamento, baixa temperatura, hospedeiro alternativo

Abstract

Development of parasitoids in hosts kept at low temperatures, without loss of quality, is important for mass rearing. Accordingly, reproduction of *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) was evaluated on *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) pupae after being stored at 0°C or 5°C. In experiment 1, *A. gemmatalis* pupae with up to 24 hours of age, were stored at 0°C, 5°C or 25°C (control) for one, three, six, nine or 12 days and exposed to parasitism for 10

¹ Prof. da Universidade Federal do Ceará, UFC, Fortaleza, CE. E-mail: plpastori@ufc.br

² Profs. da Universidade Federal de Viçosa, UFV, Viçosa, MG. E-mail: zanuncio@ufv.br; cecon@dpi.ufv.br; jeserrao@ufv.br

³ Prof. da Universidade Federal da Grande Dourados, UFGD, Dourados, MS. E-mail: fabriciofagundes@ufgd.edu.br

⁴ Prof. da Universidade Federal do Espírito Santo, UFES, Alegre, ES. E-mail: pratissoli@cca.ufes.br

* Autor para correspondência

females of *T. diatraeae* for 24 hours. In experiment 2, *A. gemmatalis* pupae, with up to 24 hours of age were exposed to parasitism by 10 females of *T. diatraeae* for 24 hours and after they were kept at 25°C until the parasitoid reached pupae stage, when they were stored at 0°C, 5°C or 25°C (control) for one, three, six, nine or 12 days. In experiment 1, parasitism of *T. diatraeae* on stored pupae of *A. gemmatalis* was greater than 90%, except at 25°C for 12 days. Emergency, progeny and longevity of males and females descendants form F1 generation were reduced with storage (0°C or 5°C). In experiment 2, storage of parasitoids at 5°C for one day increased emergency, not influenced the life cycle period with progeny similar to the control treatment. Sex ratio and width of cephalic capsule of males and females of *T. diatraeae* were similar to the control treatment in the experiments. Cold storage (0°C or 5°C) of unparasitized *A. gemmatalis* pupae or with immature stage (pupae) of parasitoid in it, for more than one day, negatively affects reproduction of *T. diatraeae*.

Key words: Parasitoids, mass rearing, storage, low temperature, alternative host

Introdução

O endoparasitoide pupal, *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae), se desenvolve, principalmente, em Lepidoptera (PARON; BERTI FILHO, 2000; PEREIRA et al., 2008, ANDRADE et al., 2010) das famílias Crambidae (CHERIAN; MARGABANDHU, 1942), Arctiidae (PARON; BERTI FILHO, 2000), Oecophoridae (OLIVEIRA et al., 2001), Pyralidae (KAZMI; CHAUHAN, 2003) e Geometridae (PEREIRA et al., 2008; ZACHÉ et al., 2010) e tem potencial para o controle biológico em culturas como cana-de-açúcar, milho e algodão na África, Ásia e Américas (BOUČEK, 1976; FÁVERO, 2009; GRANCE, 2010; RODRIGUES, 2010).

A criação de parasitoides em larga escala é fundamental para a implantação de programas de controle biológico. No entanto, a falta de dietas artificiais adequadas para parasitoides torna necessário o uso de hospedeiros preferenciais ou alternativos (MILWARD-DE-AZEVEDO et al., 2004). *A. gemmatalis* é considerado um hospedeiro alternativo para *T. diatraeae* (PARON; BERTI FILHO, 2000), por ter baixo custo de produção em laboratório (OTUKA et al., 2006), fácil obtenção em campo e por ser criada com dieta artificial (GREENE; LEPPLA; DICKERSON, 1976).

A possibilidade de conservação de hospedeiros em baixas temperaturas, sem perda da capacidade reprodutiva dos parasitoides é importante para

umentar a produção dos mesmos visando liberações inundativas durante a ocorrência de determinada praga (FLOATE, 2002; PRATISSOLI et al., 2003; MILWARD-DE-AZEVEDO et al., 2004; LÓPEZ; BOTTO, 2005; CARVALHO et al., 2008; COLINET; BOIVIN, 2011) ou para responder às flutuações na demanda por parasitoides (CORREA-FERREIRA; MOSCARDI, 1993; CHEN; LEOPOLD, 2007; GEDEN; KAUFMAN, 2007; CARVALHO et al., 2008) e fornecer insetos para pesquisas (LÓPEZ; BOTTO, 2005; CARVALHO et al., 2008). Desta forma, a preservação do hospedeiro em estado adequado é importante para a criação de inimigos naturais em larga escala (CORREA-FERREIRA; MOSCARDI 1993; BAYRAM; OZCAN; KORNOSOR, 2005; KIVAN; KILIC, 2005; BERNARDO et al., 2008; HÄCKERMANN et al., 2008; COLINET; BOIVIN, 2011).

A viabilidade de hospedeiros e inimigos naturais após armazenamento a frio depende da temperatura e da duração da exposição a esse fator (LYSYK, 2004). Exceder os limites de tolerância para o armazenamento pode comprometer a qualidade de um hospedeiro (LÓPEZ; BOTTO, 2005; CHEN; LEOPOLD; HARRIS, 2008). Assim, parâmetros biológicos e reprodutivos como parasitismo, emergência, longevidade, fecundidade, número de indivíduos e capacidade de dispersão são utilizados para avaliar o desempenho do parasitoide após o armazenamento a frio (LEOPOLD, 1998). Portanto, o armazenamento a frio de parasitoides é desejável para programas de controle biológico,

mas é de difícil implementação. A aplicação prática do armazenamento a frio de inimigos naturais é ainda limitada por razões como: a morte dos parasitoides adultos armazenados (FOERSTER; DOETZER, 2006; CHEN; LEOPOLD; BOETEL, 2008); intolerância às condições climáticas adversas (FOERSTER; DOETZER; CASTRO, 2004); redução da emergência (LÓPEZ; BOTTO, 2005; PANDEY; JOHNSON, 2005); do parasitismo (LÓPEZ; BOTTO, 2005, BERNARDO et al., 2008) e alteração da longevidade e razão sexual (FOERSTER; DOETZER; CASTRO, 2004, BAYRAM; OZCAN; KORNOSOR, 2005, BERNARDO et al., 2008).

As características naturais de insetos benéficos devem ser mantidas durante o processo de armazenamento para garantir a qualidade dos mesmos (VAN LENTEREN; TOMMASINI, 2003). Assim, o conhecimento dos limites de armazenamento a frio para *T. diatraeae* permitirá a elaboração de um protocolo para recomendação de armazenamento de pupas de *A. gemmatalis* ou dos parasitoides no interior desse hospedeiro.

O objetivo do estudo foi investigar parâmetros biológicos de *T. diatraeae* em pupas do hospedeiro alternativo, *A. gemmatalis* armazenadas a 0°C ou 5°C. Especificamente estudaram-se alguns parâmetros biológicos do parasitoide quando as pupas foram armazenadas e oferecidas ao parasitismo (1) e quando as pupas foram armazenadas com o parasitoide em seu interior no estágio de pupa (2).

Material e Métodos

Criação de *A. gemmatalis*. Lagartas de *A. gemmatalis* foram criadas em potes plásticos (1.000 mL) com tampa furada e vedada com organza para aumentar a aeração e alimentadas com dieta artificial proposta por Greene, Leppla e Dickerson (1976) a 25 ± 2°C, 70 ± 10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas. Os adultos foram mantidos em gaiolas de madeira (33 x 33 x 33 cm) com as laterais teladas e fechadas com tampa de vidro. Esses adultos

foram alimentados com solução nutritiva embebida em algodão (GREENE; LEPPLA; DICKERSON, 1976). As posturas dessas mariposas foram coletadas em folhas de papel branco dispostas no interior das gaiolas, recortadas e colocadas nos potes de criação com a dieta artificial para continuidade da criação em laboratório.

Criação de *T. diatraeae*. Os adultos de *T. diatraeae* foram mantidos em tubos de vidro (14,0 x 2,2 cm), fechados com algodão e alimentados com gotículas de mel puro. Cada pupa de *A. gemmatalis* foi oferecida às fêmeas de *T. diatraeae* recém-emergidas por 24 horas e, após esse período, individualizadas e mantidas a 25 ± 2°C, 70 ± 10% de umidade relativa (RODRIGUES, 2010) e fotofase de 14 horas até a emergência dos adultos (PEREIRA et al., 2008).

Experimento I. Pupas de *A. gemmatalis*, não parasitadas, com até 24 horas de idade, foram pesadas (202,73 ± 5,67 mg – peso médio por pupa) e armazenadas em geladeira a 0°C, 5°C ou 25°C (testemunha) por um, três, seis, nove ou 12 dias (300 pupas no total). Após o período de armazenamento, cada pupa foi inserida em um tubo de vidro (14,0 x 2,2 cm) contendo 10 fêmeas recém-emergidas de *T. diatraeae* alimentadas com uma gota de mel e fechado com algodão para evitar a fuga dos parasitoides. Essa exposição ao parasitismo ocorreu por um período de 24 horas em câmara climatizada a 25 ± 2°C, 70 ± 10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas. Ao final do período de exposição ao parasitismo, as fêmeas de *T. diatraeae* foram retiradas dos tubos e as pupas mantidas a 25 ± 2°C, 70 ± 10% de umidade relativa e fotofase de 14 horas até a emergência dos descendentes de *T. diatraeae*.

Experimento II. Trezentas e dez pupas de *A. gemmatalis*, com até 24 horas de idade foram pesadas (200,8 ± 1,91 mg – peso médio por pupa) e expostas individualmente ao parasitismo por 10 fêmeas de *T. diatraeae* recém-emergidas e alimentadas com mel em tubos de vidro (14,0 x 2,2 cm) por 24 horas a 25 ± 2°C, 70 ± 10% de umidade relativa e fotofase

de 14 horas. Ao final do período de exposição ao parasitismo, as fêmeas de *T. diatraeae* foram retiradas e as pupas parasitadas mantidas nos tubos a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 14 horas até os parasitoides atingirem o estágio de pupa, quando foram transferidos para geladeiras reguladas a 0°C , 5°C ou 25°C (testemunha) por um, três, seis, nove ou 12 dias, adaptado de Carvalho et al. (2008). Para verificar o estágio de pupa do parasitoide, uma amostra (10 pupas), além do número de repetições, foi separada, aberta com auxílio de estilete e comparada ao relatado por Paron (1999).

O número de fêmeas do parasitoide por pupa, nos dois experimentos, foi determinado em testes preliminares em função do peso das pupas hospedeiras. Os dois experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado no esquema fatorial (3 temperaturas x 5 períodos de armazenamento) com cinco repetições, sendo cada repetição constituída por quatro pupas de *A. gemmatalis*. Nesse esquema foram avaliados: a porcentagem de parasitismo (experimento I); a duração do ciclo de vida (ovo-adulto) a 25°C (experimentos I e II); a porcentagem de emergência (experimentos I e II); o número de parasitoides emergidos por pupa de *A. gemmatalis* (experimentos I e II) e a razão sexual (RS= número de fêmeas/ número de adultos) (experimentos I e II) sendo o sexo de *T. diatraeae* determinado pelas características morfológicas de suas antenas e abdome (PARON, 1999). Nos descendentes de cada tratamento foram capturados(as) ao acaso, 10 machos e 20 fêmeas para avaliação da longevidade dos descendentes (experimentos I e II) e da largura da cápsula cefálica de machos e de fêmeas (experimentos I e II) utilizando ocular micrométrica acoplada ao microscópio estereoscópio.

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) (experimentos I e II) e os modelos escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão utilizando o teste “t” de Student adotando o nível de 5% de probabilidade, no coeficiente de determinação ($R^2 = \text{SQReg}/\text{SQTotal}$) e no fenômeno biológico estudado (experimento I) e ao teste de Dunnett ($p \leq 0,05$) (experimento II).

Resultados

Experimento I

O parasitismo de *T. diatraeae* foi de $99,00 \pm 1,00\%$ em pupas de *A. gemmatalis* armazenadas a 0°C , $96,00 \pm 1,87\%$ a 5°C e $95,00 \pm 1,58\%$ a 25°C independente do período de armazenamento. Em pupas de *A. gemmatalis* armazenadas a 25°C por 12 dias não houve parasitismo visto que adultos de *A. gemmatalis* emergiram.

O percentual de emergência de *T. diatraeae* diminuiu com o aumento do período de armazenamento de pupas de *A. gemmatalis* independentemente da temperatura (Figura 1ABC). Em pupas de *A. gemmatalis* armazenadas a 0°C por 12 dias não houve emergência de *T. diatraeae* (Figura 1A).

A duração do ciclo de vida de *T. diatraeae* variou de $17,40 \pm 0,24$ a $19,80 \pm 0,97$ dias sem diferença entre os períodos de armazenamento nas três temperaturas (Tabela 1).

Tabela 1. Duração do ciclo de vida, razão sexual e largura da cápsula cefálica de machos e fêmeas de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) após armazenamento em três temperaturas por cinco períodos. $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e 14 horas de fotofase.

Armazenamento (dias)	Temperatura de armazenamento (°C)		
	0	5	25
	Duração do ciclo (dias \pm erro padrão) ^{ns}		
1	18,60 \pm 0,24	18,50 \pm 0,16	18,60 \pm 0,40
3	18,20 \pm 0,49	17,85 \pm 0,35	17,40 \pm 0,24
6	19,80 \pm 0,97	18,10 \pm 0,75	17,60 \pm 0,24
9	19,40 \pm 0,68	18,10 \pm 0,33	18,80 \pm 0,80
12	-	18,50 \pm 0,39	-
	Razão sexual (médias \pm erro padrão) ^{ns}		
1	0,99 \pm 0,00	0,99 \pm 0,00	0,99 \pm 0,00
3	0,97 \pm 0,01	0,98 \pm 0,01	0,98 \pm 0,01
6	0,98 \pm 0,01	0,99 \pm 0,00	0,98 \pm 0,00
9	0,98 \pm 0,00	0,99 \pm 0,01	0,98 \pm 0,01
12	-	0,98 \pm 0,00	-
	Cápsula cefálica de machos (mm) (médias \pm erro padrão) ^{ns}		
1	0,57 \pm 0,02	0,54 \pm 0,02	0,52 \pm 0,03
3	0,57 \pm 0,03	0,53 \pm 0,02	0,52 \pm 0,02
6	0,56 \pm 0,03	0,54 \pm 0,02	0,53 \pm 0,02
9	0,55 \pm 0,02	0,52 \pm 0,02	0,53 \pm 0,03
12	-	0,52 \pm 0,03	-
	Cápsula cefálica de fêmeas (mm) (médias \pm erro padrão) ^{ns}		
1	0,79 \pm 0,02	0,83 \pm 0,02	0,78 \pm 0,02
3	0,81 \pm 0,02	0,81 \pm 0,01	0,78 \pm 0,02
6	0,78 \pm 0,02	0,80 \pm 0,02	0,80 \pm 0,01
9	0,82 \pm 0,02	0,77 \pm 0,02	0,78 \pm 0,02
12	-	0,77 \pm 0,02	-

^{ns}Não significativo pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade;

- Não houve emergência de *T. diatraeae*.

Fonte: Elaboração dos autores.

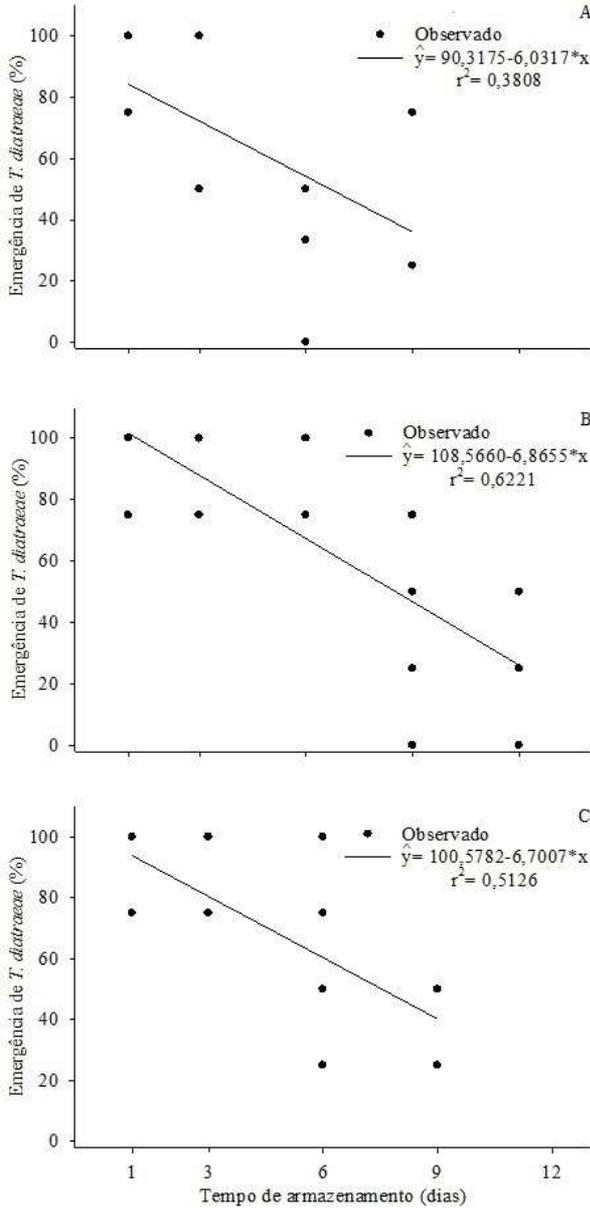
O número de descendentes de *T. diatraeae*, por pupa de *A. gemmatalis*, foi menor com o aumento do período de armazenamento nas temperaturas 0°C e 5°C (Figura 2AB) e na testemunha (25°C) (Figura 2C).

Houve redução da longevidade dos descendentes machos e fêmeas de *T. diatraeae* a 0°C (Figura 3A e 4A), a 5°C (Figura 3B e 4B) e também na

testemunha (25°C) com o aumento do período de armazenamento (Figura 3C e 4C).

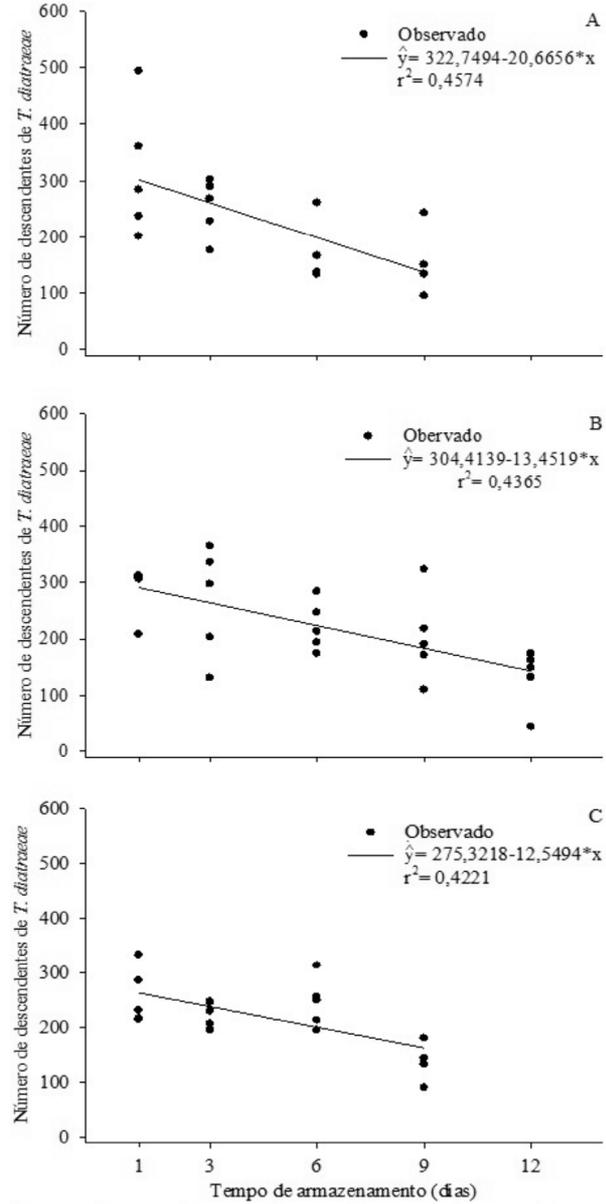
A razão sexual e a largura da cápsula cefálica de machos e de fêmeas de *T. diatraeae* foram semelhantes entre os períodos de armazenamento nas três temperaturas, com médias de $0,97 \pm 0,01$ a $0,99 \pm 0,01$, $0,52 \pm 0,02$ a $0,57 \pm 0,03$ mm e de $0,77 \pm 0,02$ a $0,83 \pm 0,02$ mm, respectivamente (Tabela 1).

Figura 1. Emergência (%) de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) após armazenamento a 0°C (A), 5°C (B) ou 25°C (C) por cinco períodos. 70 ± 10% de umidade relativa e 14 horas de fotofase.



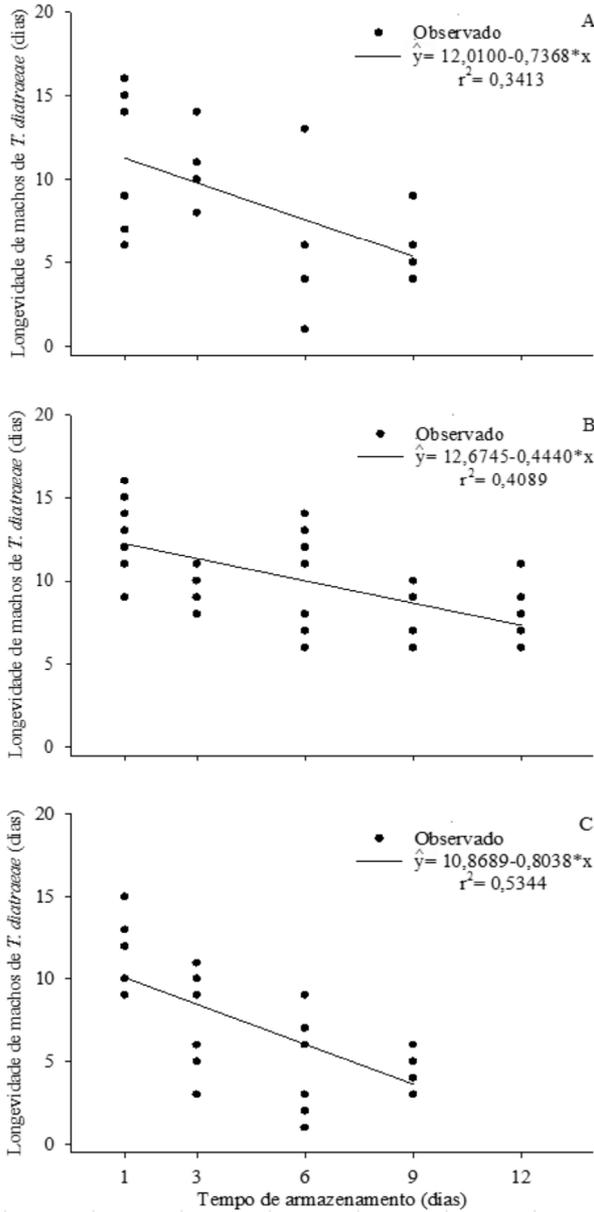
Fonte: Elaboração dos autores.

Figura 2. Número de descendentes de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) após armazenamento a 0°C (A), 5°C (B) ou 25°C (C) por cinco períodos. 70 ± 10% de umidade relativa e 14 horas de fotofase.



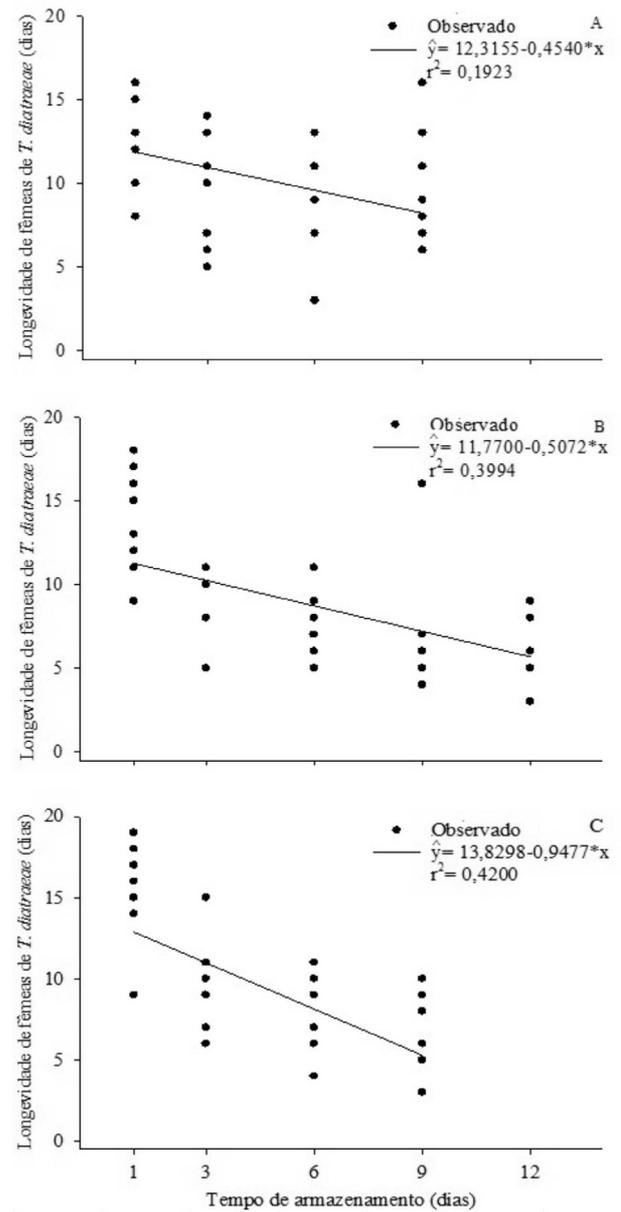
Fonte: Elaboração dos autores.

Figura 3. Longevidade de descendentes machos de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Anticarsia gemmatilis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) após armazenamento a 0°C (A), 5°C (B) ou 25°C (C) por cinco períodos. 70 ± 10% de umidade relativa e 14 horas de fotofase.



Fonte: Elaboração dos autores.

Figura 4. Longevidade de descendentes fêmeas de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Anticarsia gemmatilis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) após armazenamento a 0°C (A), 5°C (B) ou 25°C (C) por cinco períodos. 70 ± 10% de umidade relativa e 14 horas de fotofase.



Fonte: Elaboração dos autores.

Experimento II

O percentual de emergência de *T. diatraeae* foi menor que na testemunha em pupas de *A. gemmatalis* mantidas a 5°C por seis e nove dias e a 0°C por três dias e superior a 5°C por um dia (Tabela 2). Descendentes desse parasitoide morreram a 0°C por seis, nove e 12 dias e a 5°C por 12 dias (Tabela 2). O percentual de emergência de *T. diatraeae* de pupas armazenadas a 0°C por um dia e 5°C por três dias foi semelhante ao da testemunha (Tabela 2).

A temperatura não afetou a duração do ciclo de vida de *T. diatraeae*, excluindo o período de armazenamento, sendo as médias semelhantes a da testemunha (Tabela 2).

O número de descendentes de *T. diatraeae* foi semelhante a da testemunha quando as pupas de *A. gemmatalis*, com o parasitoide no estágio de pupa, foram armazenadas a 5°C por um dia, e inferiores nos demais tratamentos (Tabela 2).

A longevidade de descendentes machos de *T. diatraeae* foi menor que na testemunha quando *T. diatraeae*, em estágio imaturo nas pupas de *A. gemmatalis*, foi armazenado por três dias a 0°C e a 5°C por três e seis dias. A longevidade de descendentes fêmeas desse parasitoide foi inferior a testemunha em todos os tratamentos (Tabela 2).

A razão sexual e a cápsula cefálica de machos e de fêmeas de *T. diatraeae* foram semelhantes nas temperaturas e períodos de armazenamento com médias de $0,97 \pm 0,01$ a $1,00 \pm 0,00$, $0,50 \pm 0,02$ a $0,56 \pm 0,03$ mm e de $0,76 \pm 0,02$ a $0,80 \pm 0,02$ mm, respectivamente (Tabela 2).

Discussão

O parasitismo de *T. diatraeae* em pupas de *A. gemmatalis* armazenadas (a 0°C ou a 5°C) foi superior a 95%, corroborando os percentuais encontrados por Paron; Berti Filho (2000) em pupas não armazenadas. A 25°C por 12 dias, o período pupal completou-se e houve emergência de adultos de *A. gemmatalis*. No entanto, houve efeito negativo da temperatura de armazenamento no percentual de emergência e no número de parasitoides emergidos quando pupas de *A. gemmatalis* foram armazenadas a 0°C ou a 5°C e oferecidas ao parasitoide. O maior tempo de armazenamento a frio pode: (1) alterar a cor e/ou promover o escurecimento do hospedeiro devido a melanização, causando declínio nas taxas de parasitismo e emergência (LÓPEZ; BOTTO, 2005; CHEN; LEOPOLD, 2007); (2) causar injúrias as células das pupas, o que compromete a sequência de reações metabólicas e consequentemente, sua qualidade nutricional (RUNDLE; THOMSON; HOFFMANN, 2004; MILWARD-DE-AZEVEDO et al., 2004; CHEN; LEOPOLD, 2007; PEREIRA et al., 2009); (3) promover dessecação do hospedeiro contribuindo para a redução na reprodução do parasitoide (CORREA-FERREIRA; MOSCARDI, 1993); além de (4) permitir a deterioração por patógenos (KANGA et al., 2004), danos estruturais, mecânicos ou alguma combinação desses fatores (CHEN; LEOPOLD, 2007). Assim, erros no processo de armazenamento a frio podem afetar negativamente os parasitoides reduzindo o seu impacto nas populações de pragas (PILKINGTON; HODDLE, 2006). Ovos de *Homalodisca coagulata* (Say) (Hemiptera: Cicadellidae) morreram quando armazenados por cinco dias a 2°C, mas permanecem adequados para *Gonatocerus ashmeadi* Girault (Hymenoptera: Mymaridae) por, até 30 dias, se armazenados a 10°C (CHEN; LEOPOLD, 2007).

Tabela 2. Emergência (%), duração do ciclo de vida (descontado o tempo de armazenamento), número de indivíduos, razão sexual, longevidade e largura da cápsula cefálica de machos e fêmeas (médias ± Erro Padrão) de *Trichospilus diatraeae* Chertan & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) armazenado no estágio de pupa dentro de pupas de *Anticarsia gemmatilis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). 70 ± 10% de umidade relativa e 14 horas de fotofase.

Tratamentos	Emergência (%)	Duração (dias)	Número de indivíduos	Razão Sexual ^{ns}	Longevidade machos (dias)	Longevidade fêmeas (dias)	Cápsula cefálica machos (mm) ^{ns}	Cápsula cefálica fêmeas (mm) ^{ns}
0°C por 1 dia	55,00 ± 9,35 ^{1st}	19,20 ± 1,01 ^{1st}	129,23 ± 35,06*	0,98 ± 0,00	4,10 ± 0,31 ^{1st}	6,40 ± 0,65*	0,52 ± 0,03	0,76 ± 0,02
0°C por 3 dias	35,00 ± 18,71*	14,65 ± 5,98 nd	37,60 ± 16,18*	0,97 ± 0,01	3,50 ± 0,58*	6,25 ± 0,75*	0,51 ± 0,02	0,78 ± 0,02
0°C por 6 dias	0,00 ± 0,00*	-	-	-	-	-	-	-
0°C por 9 dias	0,00 ± 0,00*	-	-	-	-	-	-	-
0°C por 12 dias	0,00 ± 0,00*	-	-	-	-	-	-	-
5°C por 1 dia	85,00 ± 10,00*	15,98 ± 0,15 nd	255,78 ± 18,71 nd	0,99 ± 0,00	5,30 ± 0,67 nd	6,00 ± 0,67*	0,53 ± 0,03	0,78 ± 0,02
5°C por 3 dias	65,00 ± 6,12 nd	19,37 ± 0,30 nd	44,13 ± 10,02*	0,97 ± 0,01	3,50 ± 0,48*	4,60 ± 0,43*	0,56 ± 0,03	0,79 ± 0,02
5°C por 6 dias	25,00 ± 7,91*	18,00 ± 4,51 ^{1st}	31,70 ± 10,66*	0,98 ± 0,01	3,00 ± 0,91*	6,20 ± 0,30*	0,50 ± 0,02	0,78 ± 0,02
5°C por 9 dias	10,00 ± 6,12*	10,20 ± 6,25 nd	12,00 ± 7,52*	1,00 ± 0,00	-	5,95 ± 0,47*	-	0,80 ± 0,02
5°C por 12 dias	0,00 ± 0,00*	-	-	-	-	-	-	-
25°C (Test.)	70,00 ± 9,35	17,45 ± 0,30	295,53 ± 18,41	0,99 ± 0,00	6,30 ± 1,02	11,53 ± 0,98	0,54 ± 0,03	0,77 ± 0,01

^{ns}Não significativo pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade;

ndMédias não diferem da testemunha (Dunnett, p ≤ 0,05%);

*Médias diferem da testemunha (Dunnett, p ≤ 0,05%);

- Não houve emergência de *T. diatraeae* e/ou dados;

Fonte: Elaboração dos autores.

Trissolcus basalus (Wollaston) (Hymenoptera: Scelionidae) não emergiram de ovos de *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae) armazenados a 8°C por mais de 120 dias. No entanto, quando armazenados a -15°C, a emergência foi reduzida (CORREA-FERREIRA; MOSCARDI, 1993). *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) apresentou índices adequados de parasitismo e emergência de pupas de *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae), após armazenamento a 10°C por até 20 dias (PEREIRA et al., 2009). No entanto houve baixa relação entre a porcentagem de emergência de *Trichomalopsis sarcophagae* Gahan (Hymenoptera: Pteromalidae) e *Hyssopus pallidus* (Askew) (Hymenoptera: Eulophidae) e o número de semanas de armazenamento a frio de pupas de *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) e larvas de *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) e *Cydia molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae), respectivamente (LYSYK, 2004; HÄCKERMANN et al., 2008). A conservação de hospedeiros em baixas temperaturas constitui uma estratégia para disponibilizar o hospedeiro para programas de produção de parasitoides (LEOPOLD; ROJAS; ATKINSON, 1998; FLOATE, 2002; PRATISSOLI et al., 2003; MILWARD-DE-AZEVEDO et al., 2004; PEREIRA et al., 2009) ou de liberação inoculativa (AYVAZ et al., 2008), porém determinar a relação ideal do binômio temperatura versus tempo de armazenamento é fundamental para estabelecer protocolos para armazenamento e evitar que o frio afete a fecundidade dos parasitoides (BAYRAM; OZCAN; KORNOSOR, 2005; PANDEY; JOHNSON, 2005; CHEN; LEOPOLD, 2007) uma vez que cada espécie parasitoide tem uma história evolutiva que determina sua adaptação ao armazenamento a frio (COLINET; BOIVIN, 2011).

A menor emergência de *T. diatraeae* de pupas armazenadas em baixas temperaturas pode estar relacionada à injúria por frio durante o desenvolvimento do estágio imaturo do parasitoide

no hospedeiro (CHEN; LEOPOLD; HARRIS, 2008). O armazenamento prolongado reduz a emergência do parasitoide devido aos efeitos nos órgãos reprodutivos pela nutrição insuficiente e respiração (TEZZE; BOTTO, 2004; FOERSTER; DOETZER, 2006) ou, indiretamente, na sobrevivência do hospedeiro (LYSYK, 2004) ou ainda, pela alteração da dureza e espessura das estruturas do hospedeiro, bem como, mudanças no teor de água do hospedeiro armazenado (KIVAN; KILIC, 2005).

A semelhança na duração do ciclo de vida de *T. diatraeae* em pupas de *A. gemmatalis* armazenadas pode estar relacionada a manutenção da qualidade nutricional das pupas, uma vez que essas mantêm as condições fisiológicas e/ ou nutricionais adequadas por determinado período de armazenamento em função da espécie (PEREIRA et al., 2009). O armazenamento deve manter a qualidade dos hospedeiros a um custo reduzido e com equipamentos disponíveis (LYSYK, 2004; KIVAN; KILIC, 2005; GEDEN; KAUFMAN, 2007).

O menor número de indivíduos de *T. diatraeae* que emergiram nos dois experimentos indica impacto negativo pelo aumento do período de armazenamento como relatado para *P. elaeisis* em pupas de *B. mori* armazenadas a 10°C (PEREIRA et al., 2009) e *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae), quando o hospedeiro, lagartas de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) foi mantido a 2,75°C por seis e nove dias (CARVALHO et al., 2008). A atividade metabólica da pupa depende do material nutritivo acumulado no seu corpo durante a fase larval (BERNARDO et al., 2008) e períodos prolongados de armazenamento a frio podem reduzir os nutrientes para o desenvolvimento do parasitoide (FOERSTER; DOETZER, 2006). A exposição prolongada a baixas temperaturas pode matar parasitoides gregários (caso de *T. diatraeae*) em desenvolvimento da borda da pupa para o seu interior e reduzir o número de parasitoides emergidos por pupa do hospedeiro (RIVERS; LEE JUNIOR; DENLINGER, 2000). Por outro lado,

a morte de parasitoides solitários com um único adulto por pupa parasitada é maior por não haver o “efeito borda” (LYSYK, 2004). A baixa temperatura é uma das condições de estresse que um inseto pode encontrar e, mesmo com características adaptativas para melhorar sua sobrevivência, fisiologistas e geneticistas procuram um mecanismo universal para a resistência a múltiplas formas de estresse. Hipóteses baseadas em estudos de laboratório incluem: (1) baixar a taxa metabólica, que conserva os recursos e minimiza a exposição ao estresse, (2) acumular reservas de energia metabólica (gordura corporal) que promove resistência múltipla ao estresse e, (3) produzir proteínas de choque térmico, para atuar na proteção e reestruturação/ renaturação da proteína celular (BUBLIY; LOESCHCKE, 2005).

A menor longevidade de descendentes machos e fêmeas de *T. diatraeae* com o armazenamento a frio de pupas de *A. gemmatalis* corrobora resultados da geração F1 de *G. ashmeadi* com menor longevidade e queda da fecundidade quando ovos do hospedeiro *H. coagulata* foram armazenados a 10°C por 70 dias (CHEN; LEOPOLD, 2007). A sobrevivência é um importante indicador da aptidão de insetos armazenados (BERNARDO et al., 2008; COLINET; BOIVIN, 2011) e a redução desse parâmetro para *T. diatraeae* pelo armazenamento de pupas ou quando o parasitoide foi armazenado, indica sua suscetibilidade ao armazenamento a frio. O armazenamento em temperaturas muito abaixo da “ótima” produz adultos com menor reserva corporal e, conseqüentemente, menor longevidade (BERNARDO et al., 2008) como relatado para *Trichogramma nerudai* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (TEZZE; BOTTO, 2004). No entanto, a baixa temperatura não afetou a longevidade dos descendentes dos parasitoides *P. elaeisis*, *G. ashmeadi*, *Thripobius javae* (= *T. semiluteus*) (Hymenoptera: Eulophidae) e *C. flavipes* (CHEN; LEOPOLD, 2007; BERNARDO et al., 2008; CARVALHO et al., 2008; PEREIRA et al., 2009).

A maior mortalidade de *T. diatraeae* no interior das pupas de *A. gemmatalis* após exposição a 0°C comparado a 5°C indica que lesões de refrigeração diretas podem ter ocorrido a 0°C, enquanto *G. ashmeadi* teve maior mortalidade após exposição a 10°C, indicativo de lesões indiretas (CHEN; LEOPOLD; BOETEL, 2008). A refrigeração causa lesões diretas e indiretas, sendo a direta caracterizada por ferimento ou choque frio por período curto a temperatura baixa (MORRIS et al., 1983) e a indireta pela exposição prolongada as temperaturas moderadamente baixas, mas geralmente acima de 0°C (LEE, 1991).

A semelhança na largura da cápsula cefálica e da razão sexual (superior a 0,95, nos dois experimentos) de *T. diatraeae* indicam que o armazenamento de pupas ou desse parasitoide na fase de pupa dentro do hospedeiro alternativo, *A. gemmatalis*, não afetaram esses parâmetros indicando que a largura da capsula cefálica e razão sexual podem ser características conservativas dessa espécie (FÁVERO, 2009; GRANCE, 2010; RODRIGUES, 2010; PASTORI et al., 2012a). Assim, houve emergência de maior número de fêmeas, importante em sistemas de criação massal, experimentos de laboratório e seleção de indivíduos para liberação no campo (UÇKAN; GULEL, 2002; AMALIN; PENA; DUNCAN, 2005; PEREIRA et al., 2009) com tamanho adequado (UBAIDILLAH, 2006; GRANCE, 2010). As progênes de *T. diatraeae* com alta proporção de fêmeas indicam que não houve mortalidade diferencial devido ao armazenamento a frio (LÓPEZ; BOTTO, 2005) como relatado para a progênie F1 de *Telenomus busseolae* Gahan (Hymenoptera: Scelionidae) armazenado a frio como adulto (BAYRAM; OZCAN; KORNOSOR, 2005) e para *C. flavipes*, *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae), *Trissolcus basalis*, *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae) e *P. elaeisis* quando os hospedeiros foram mantidos a 2,75, 4, 8 ou -15, 15 ou 18 e 10°C, respectivamente (CORREA-FERREIRA; MOSCARDI, 1993; FOERSTER;

DOETZER, 2006; AYVAZ et al., 2008; CARVALHO et al., 2008, PEREIRA et al., 2009).

A redução dos principais parâmetros biológicos de *T. diatraeae* pode ter ocorrido pelo fato das temperaturas estarem abaixo da temperatura base (Tb) de *A. gemmatalis* (13,80°C) (MAGRINI et al., 1996) e da temperatura base (Tb) de *T. diatraeae* no hospedeiro *A. gemmatalis* (8,40°C) (PASTORI et al., 2012b) e sugere suscetibilidade desse parasitoide ao armazenamento a frio nas condições desse estudo. Condições adequadas para o armazenamento a frio de parasitoides variam com as técnicas utilizadas e com o potencial biótico de cada espécie (LÓPEZ; BOTTO, 2005), sendo que temperaturas abaixo do limiar térmico inferior de desenvolvimento causam efeitos negativos no desenvolvimento de parasitoides (LYSYK, 2004; BAYRAM; OZCAN; KORNOSOR, 2005). Isto deve ser melhor estudado pois as espécies não têm o mesmo potencial para serem armazenadas a frio antes da sua utilização no controle biológico.

Conclusões

A emergência, o número de indivíduos e a longevidade dos descendentes de *T. diatraeae* reduzem em pupas de *A. gemmatalis* armazenadas a frio (0°C ou 5°C) e oferecidas ao parasitismo.

O armazenamento a frio (5°C) por curto período (24 horas) de pupas parasitadas, não afeta a reprodução de *T. diatraeae* e pode ser uma alternativa para viabilizar a embalagem para transporte.

O armazenamento a frio (0°C ou 5°C) de *T. diatraeae* na fase de pupa dentro do hospedeiro alternativo, *A. gemmatalis* por mais de 24 horas não é recomendado para preservar os parâmetros biológicos desse parasitoide.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo suporte financeiro.

Referências

AMALIN, D. M.; PENA, J. E.; DUNCAN, R. E. Effects of host age, female parasitoid age, and host plant on parasitism of *Ceratogramma etiennei* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Florida Entomologist*, Florida, v. 88, n. 1, p. 77-82, 2005.

ANDRADE, G. S.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C.; ZANUNCIO, T. V.; LEITE, G. L. D.; POLANCZYK, R. A. Immunity of an alternative host can be overcome by higher densities of its parasitoids *Palmistichus elaeisis* and *Trichospilus diatraeae*. *PLoS ONE*, San Francisco, v. 5, e13231, 2010.

AYVAZ, A.; KARASU, E.; KARABÖRKLÜ, S.; TUNÇBILEK, A. S. Effects of cold storage, rearing temperature, parasitoid age and irradiation on the performance of *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Journal of Stored Products Research*, Manhattan, v. 44, n. 3, p. 232-240, 2008.

BAYRAM, A.; OZCAN, H.; KORNOSOR, S. Effect of cold storage on the performance of *Telenomus busseolae* Gahan (Hymenoptera: Scelionidae), an egg parasitoid of *Sesamia nonagrioides* (Lefebvre) (Lepidoptera: Noctuidae). *Biological Control*, Orlando, v. 35, n. 1, p. 68-77, 2005.

BERNARDO, U.; IODICE, L.; SASSO, R.; PEDATA, P. A. Effects of cold storage on *Thripobius javae* (= *T. semiluteus*) (Hymenoptera: Eulophidae). *Biocontrol Science and Technology*, Lethbridge, v. 18, n. 9, p. 921-933, 2008.

BOUČEK, Z. The African and Asiatic species of *Trichospilus* and *Cotterellia* (Hymenoptera: Eulophidae). *Bulletin of Entomological Research*, Cardiff, v. 65, n. 4, p. 669-681, 1976.

BUBLIY, O. A.; LOESCHCKE, V. Variation of life-history and morphometrical traits in *Drosophila buzzatii* and *Drosophila simulans* collected along an altitudinal gradient from a Canary island. *Biological Journal of the Linnean Society*, Southampton, v. 84, n. 1, p. 119-136, 2005.

- CARVALHO, J. S.; VACARI, A. M.; DE BORTOLI, S. A.; VIEL, S. R. Efeito do armazenamento de pupas de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) em baixa temperatura. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*, Madrid, v. 34, n. 1, p. 21-26, 2008.
- CHEN, W.-L.; LEOPOLD, R. A. Progeny quality of *Gonatocerus ashmeadi* (Hymenoptera: Mymaridae) reared on stored eggs of *Homalodisca coagulata* (Hemiptera: Cicadellidae). *Journal of Economic Entomology*, Lanham, v. 100, n. 3, p. 685-694, 2007.
- CHEN, W.-L.; LEOPOLD, R. A.; BOETEL, M. A. Cold storage of adult *Gonatocerus ashmeadi* (Hymenoptera: Mymaridae) and effects on maternal and progeny fitness. *Journal of Economic Entomology*, Lanham, v. 101, n. 6, p. 1760-1770, 2008.
- CHEN, W.-L.; LEOPOLD, R. A.; HARRIS, M. O. Cold storage effects on maternal and progeny quality of *Gonatocerus ashmeadi* Girault (Hymenoptera: Mymaridae). *Biological Control*, Orlando, v. 46, n. 2, p. 122-132, 2008.
- CHERIAN, M. C.; MARGABANDHU, V. A new species of *Trichospilus* (Hymenoptera: Chalcidoidea) from South India. *Indian Journal of Entomology*, New Delhi, v. 4, n. 2, p. 101-102, 1942.
- COLINET, H.; BOIVIN, G. Insect parasitoids cold storage: a comprehensive review of factors of variability and consequences. *Biological Control*, Orlando, v. 58, n. 2, p. 83-166, 2011.
- CORREA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. Técnicas de armazenamento de ovos do percevejo-verde visando à multiplicação do parasitóide *Trissolcus basal* (Wollaston). *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 28, n. 11, p. 1247-1253, 1993.
- FÁVERO, K. *Biologia e técnicas de criação de Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) e *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). 2009. Dissertação (Mestrado Entomologia e Conservação da Biodiversidade) – Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.
- FLOATE, K. D. Production of filth fly parasitoids (Hymenoptera: Pteromalidae) on fresh and on freeze-killed and stored house fly pupae. *Biocontrol Science and Technology*, Lethbridge, v. 12, n. 5, p. 595-603, 2002.
- FOERSTER, L. A.; DOETZER, A. K. Cold storage of the egg parasitoids *Trissolcus basal* (Wollaston) and *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae). *Biological Control*, Orlando, v. 36, n. 2, p. 232-237, 2006.
- FOERSTER, L. A.; DOETZER, A. K.; CASTRO, L. C. F. Emergence, longevity and fecundity of *Trissolcus basal* and *Telenomus podisi* after cold storage in the pupal stage. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 39, n. 9, p. 841-845, 2004.
- GEDEN, C. J.; KAUFMAN, P. E. Development of *Spalangia cameroni* and *Muscidifurax raptor* (Hymenoptera: Pteromalidae) on live house fly (Diptera: Muscidae) pupae and pupae killed by heat shock, irradiation, and cold. *Environmental Entomology*, Lanham, v. 36, n. 1, p. 34-39, 2007.
- GRANCE, E. L. V. *Potencial de Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. 2010. Dissertação (Mestrado Entomologia e Conservação da Biodiversidade) – Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.
- GREENE, G. L.; LEPPLA, N. C.; DICKERSON, W. A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial diet. *Journal of Economic Entomology*, Lanham, v. 69, n. 4, p. 487-488, 1976.
- HÄCKERMANN, J.; ROTT, A. S.; TSCHUDI-REIN, K.; DORN, S. Cold stored ectoparasitoid of *Cydia* fruit moths released under different temperature regimes. *BioControl*, Wageningen, v. 53, n. 6, p. 857-867, 2008.
- KANGA, L. H. B.; JONES, W. A.; HUMBER, R. A.; BOYD JUNIOR, D. W. Fungus pathogens of the glassy-winged sharpshooter *Homalodisca coagulata* (Homoptera: Cicadellidae). *Florida Entomologist*, Florida, v. 87, n. 2, p. 225-228, 2004.
- KAZMI, S. I.; CHAUHAN, N. Chalcidoid parasitoids (Hymenoptera: Chalcidoidea) of *Hypsipyla robusta* (Lepidoptera: Pyralidae), a pest of cedars and mahogany. *Oriental Insects*, New Delhi, v. 37, p. 261-275, 2003.
- KIVAN, M.; KILIC, N. Effects of storage at low-temperature of various heteropteran host eggs on the egg parasitoid, *Trissolcus semistriatus*. *BioControl*, Wageningen, v. 50, n. 4, p. 589-600, 2005.
- LEE, R. E. Principles of insect low temperature tolerance. In: LEE, R. D. (Ed.). *Insects at low temperature*. New York: Chapman & Hall, 1991. p. 17-46.
- LEOPOLD, R. A. Cold storage of insects for integrated pest management. In: HALLMAN, G. J.; DENLINGER, D. L. (Ed.). *Temperature sensitivity in insects and application in integrated pest management*. Boulder: Westview Press, 1998. p. 235-267.

- LEOPOLD, R. A.; ROJAS, R. R.; ATKINSON, P. W. Post pupariation cold storage of three species of flies: increasing chilling tolerance by acclimation and recurrent recovery periods. *Cryobiology*, Colchester, v. 36, n. 3, p. 213-224, 1998.
- LÓPEZ, S. N.; BOTTO, E. Effect of cold storage on some biological parameters of *Eretmocerus corni* and *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Biological Control*, Orlando, v. 33, n. 2, p. 123-130, 2005.
- LYSYK, T. J. Effects of cold storage on development and survival of three species of parasitoids (Hymenoptera: Pteromalidae) of house fly, *Musca domestica* L. *Environmental Entomology*, Lanham, v. 33, n. 4, p. 823-831, 2004.
- MAGRINI, E. A.; SILVEIRA NETO, S.; PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; HADDAD, M. L. Biologia e exigências térmicas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) em laboratório. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, Londrina, v. 25, n. 3, p. 513-519, 1996.
- MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V.; SERAFIN, I.; PIRANDA, E. M.; GULIAS-GOMES, C. C. Desempenho reprodutivo de *Nasonia vitripennis* Walker (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas criopreservadas de *Chrysomya megacephala* Fabricius (Diptera: Calliphoridae): avaliação preliminar. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 34, n. 1, p. 207-211, 2004.
- MORRIS, G. J.; COULSON, G.; MEYER, M. A.; MCLELLAN, M. R.; FULLER, B. J.; GROUT, B. W. W.; PRITCHARD, H. W.; KNIGHT, S. C. Cold shock-a widespread cellular reaction. *Cryoletters*, Lewes, v. 4, p. 179-192, 1983.
- OLIVEIRA, M. A. S.; JUNQUEIRA, N. T. V.; ICUMA, I. M.; ALVES, R. T.; OLIVEIRA, J. N. S.; ANDRADE, G. A. *Incidência de danos da broca do fruto da graviola no Distrito Federal*. Embrapa-CPAC, Planaltina, 2001, p. 1-5. (Comunicado técnico, 51).
- OTUKA, A. K.; VACARI, A. M.; MARTINS, M. I. E. G.; DE BORTOLI, S. A. Custo de produção de *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae) criado com diferentes presas. *O Biológico*, São Paulo, v. 68, p. 224-227, 2006.
- PANDEY, R. R.; JOHNSON, M. W. Effects of cold storage on *Anagyrus ananatis* Gahan (Hymenoptera: Encyrtidae). *Biological Control*, Orlando, v. 35, n. 1, p. 9-16, 2005.
- PARON, M. R. *Bioecologia de Trichospilus diatraeae Cherian & Magabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), endoparasitóide de pupas de Lepidoptera*. 1999. Tese (Doutorado em Ciências – Entomologia) – Programa de Pós-Graduação em Ciências – Entomologia. ESALQ/USP, Piracicaba.
- PARON, M. R.; BERTI FILHO, E. Capacidade reprodutiva de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de diferentes hospedeiros (Lepidoptera). *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 57, n. 2, p. 355-358, 2000.
- PASTORI, P. L.; PEREIRA, F. F.; ANDRADE, G. S.; SILVA, R. O.; ZANUNCIO, J. C.; PEREIRA, A. I. A. Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) in pupae of two lepidopterans defoliators of eucalypt. *Revista Colombiana de Entomología*, Bogotá, v. 38, n. 1, p. 91-93, 2012a.
- PASTORI, P. L.; ZANUNCIO, J. C.; PEREIRA, F. F.; PRATISSOLI, D.; CECON, P. R.; SERRAO, J. E. Desenvolvimento e exigências térmicas de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera, Eulophidae) criado em pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera, Noctuidae). *Revista Brasileira de Biociências*, Porto Alegre, v. 10, n. 1, p. 79-85, 2012b.
- PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; SERRÃO, J. E.; PASTORI, P. L.; RAMALHO, F. S. Reproductive performance of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) with previously refrigerated pupae of *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). *Brazilian Journal of Biology*, São Carlos, v. 69, n. 3, p. 865-869, 2009.
- PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; TAVARES, M. T.; PASTORI, P. L.; JACQUES, G. C.; VILELA, E. F. New record of *Trichospilus diatraeae* as a parasitoid of the eucalypt defoliator *Thyrintina arnobia* in Brazil. *Phytoparasitica*, Raanana, v. 36, n. 3, p. 304-306, 2008.
- PILKINGTON, L. J.; HODDLE, M. S. Reproductive and development biology of *Gonatocerus ashmeadi* (Hymenoptera: Mymaridae), an egg parasitoid of *Homalodisca coagulata* (Hemiptera: Cicadellidae). *Biological Control*, Orlando, v. 37, n. 3, p. 266-275, 2006.
- PRATISSOLI, D.; VIANNA, U. R.; OLIVEIRA, H. N.; PEREIRA, F. F. Efeito do armazenamento de ovos de *Anagasta kuehniella* (Lep.: Pyralidae) nas características biológicas de três espécies de *Trichogramma* (Hym.: Trichogrammatidae). *Ceres*, Viçosa, v. 50, n. 287, p. 95-105, 2003.
- RIVERS, D. B.; LEE JUNIOR, R. C.; DENLINGER, D. L. Cold hardiness of the fly pupal parasitoid *Nasonia vitripennis* is enhanced by its host *Sarcophaga crassipalpis*. *Journal of Insect Physiology*, Amsterdam, v. 46, n. 1, p. 99-106, 2000.

- RODRIGUES, M. A. T. *Exigências térmicas e hídricas de Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). 2010. Dissertação (Mestrado Entomologia e Conservação da Biodiversidade) – Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.
- RUNDLE, B. J.; THOMSON, L. J.; HOFFMANN, A. A. Effects of cold storage on field and laboratory performance of *Trichogramma carverae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and the response of three *Trichogramma* spp. (*T. carverae*, *T. nr. brassicae*, and *T. funiculatum*) to cold. *Journal of Economic Entomology*, Lanham, v. 97, n. 2, p. 213-221, 2004.
- TEZZE, A. A.; BOTTO, E. N. Effect of cold storage on the quality of *Trichogramma nerudai* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Biological Control*, Orlando, v. 30, n. 1, p. 11-16, 2004.
- UBAIDILLAH, R. Eulophine parasitoids of the genus *Trichospilus* in Indonesia, with the description of two new species (Hymenoptera: Eulophidae). *Entomological Science*, Kyoto, v. 9, p. 217-222, 2006.
- UÇKAN, F.; GULEL, A. Age-related fecundity and sex ratio variation in *Apanteles galleriae* (Braconidae) and host effect on fecundity and sex ratio of its hyperparasitoid *Dibrachys boarmiae* (Hym., Pteromalidae). *Journal of Applied Entomology*, Goettingen, v. 126, p. 534-537, 2002.
- VAN LENTEREN, J. C.; TOMMASINI, M. G. Mass production, storage, shipment and release of natural enemies. In: VAN LENTEREN, J. C. (Ed.). *Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures*. Wallingford: CABI Publishing, 2003. p. 181-189.
- ZACHÉ, B.; WILCKEN, C. F.; DACOSTA, R. R.; SOLIMAN, E. P. *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), a new parasitoid of *Melanolophia consimilaria* (Lepidoptera: Geometridae). *Phytoparasitica*, Raanana, v. 38, n. 4, p. 355-357, 2010.

