

ISABEL MOREIRA DA SILVA

PRODUTOS NATURAIS E O PARASITOIDE *Trichospilus diatraeae*
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) NO CONTROLE DE *Diaphania hyalinata*
(LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS- BRASIL
2012

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

S586p
2012

Silva, Isabel Moreira da, 1986-
Produtos naturais e o parasitoide *Trichospilus diatraeae*
(Hymenoptera: Eulophidae) no controle de
Diaphania hyalinata (Lepidoptera: Crambidae) / Isabel
Moreira da Silva. – Viçosa, MG, 2012.
xi, 71f. : il. ; 29cm.

Orientador: José Cola Zanuncio.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Broca (Inseto). 2. Sistemas de controle biológico.
3. Essências e óleos essenciais. 4. Hymenoptera.
5. Produtos naturais. I. Universidade Federal de Viçosa.
II. Título.

CDD 22. ed. 595.79

ISABEL MOREIRA DA SILVA

PRODUTOS NATURAIS E O PARASITOIDE *Trichospilus diatraeae*
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) NO CONTROLE DE *Diaphania hyalinata*
(LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 19 de julho de 2012

Gilberto Bernardo de Freitas

Madelaine Venzon

Marcus Alvarenga Soares

José Cola Zanuncio
(Orientador)

Aos meus pais Antonio Raphael e Maria do Carmo
pelo incentivo, apoio e carinho em todos
os momentos.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, presença fundamental em minha vida, pela sabedoria e capacidade concedida para poder lutar e conquistar meus objetivos.

Aos meus pais, Antônio Rafael e Maria do Carmo, pelo amor, incentivo e confiança que depositaram em mim.

Ao meu irmão Antônio Rafael e minha vó Mirka pelo apoio incondicional durante o curso.

Ao Departamento de Fitotecnia pelo suporte e oportunidade da realização dessa pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa.

Ao professor José Cola Zanuncio pela orientação nesse trabalho e ensinamentos transmitidos desde a graduação.

A Dra. Teresinha Vinha Zanuncio pelas sugestões e apoio na elaboração da dissertação.

Ao Dr. Jose Milton Milagres Pereira pelos conselhos e oportunidade do estágio na época da graduação, o que abriu portas para seguir a vida acadêmica.

Aos professores da Universidade Federal de Viçosa pelos conhecimentos adquiridos durante a graduação e pós-graduação.

Aos membros da banca pelas sugestões finais e contribuição para melhoria da qualidade do trabalho.

Aos amigos do Laboratório de Controle Biológico de Insetos pela amizade e os valiosos conselhos. Em especial a Ana Flávia que me acompanhou e auxiliou na execução dos experimentos.

Aos amigos que tive o prazer de conhecer na graduação Dudu, Fernandinha, João Paulo, Lucilene, Luiz Felipe, Mônica e Nivia pela valiosa amizade mostrada até hoje. Agradeço pelo companheirismo e pela ajuda nos momentos difíceis. Vocês foram peças fundamentais nesta conquista.

Aos funcionários do Laboratório de Controle Biológico de Insetos e do Insetário da UFV, Srs. Antônio, Manoel e Moacir pela grandiosa ajuda durante o desenvolvimento dos experimentos.

Aos amigos de Viçosa, especialmente, Fernanda, Juliana, Luciana e Mirian pela grande amizade, apoio e carinho estando sempre presentes em todos os momentos, mostrando o valor da amizade.

Aos colegas do curso de pós-graduação.

E a todos que contribuíram de alguma forma direta ou indiretamente na elaboração desta pesquisa quero apresentar meus sinceros agradecimentos.

BIOGRAFIA

ISABEL MOREIRA DA SILVA, filha de Maria do Carmo Silva e Antônio Raphael da Silva, nasceu na cidade de Viçosa, Minas Gerais, Brasil, no dia 10 de março de 1986.

Em março de 2005, ingressou no Curso de Agronomia na Universidade Federal de Viçosa (UFV) em Viçosa, Minas Gerais, concluindo-o em janeiro de 2010.

No período de agosto/2007 a julho/2009, durante a graduação, foi bolsista de Iniciação Científica atuando na área de Fruticultura e Controle Biológico de Insetos.

Em agosto de 2010, iniciou o Mestrado em Fitotecnia, na Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, Minas Gerais, defendendo a dissertação em julho de 2012.

SUMÁRIO

RESUMO	viii
ABSTRACT	x
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS	5

Desenvolvimento e reprodução de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae)

Resumo	12
Abstract	12
Agradecimentos	16
Referências	17

Densidade de parasitismo e idade da pupa de *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae) sobre o inimigo natural *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae)

Resumo	23
Abstract	23
Introdução	24
Material e Métodos	26
Resultados	28
Discussão	29
Conclusões	33
Agradecimentos	33
Referências	34

Produtos naturais no controle de *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae)

Resumo	52
Abstract	52
Introdução	53
Material e Métodos	55
Resultados	57

Discussão.....	58
Conclusões.....	61
Agradecimentos.....	61
Referências.....	62
Considerações Finais.....	71

RESUMO

SILVA, Isabel Moreira da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2012. **Produtos naturais e o parasitoide *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) no controle de *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae).** Orientador: José Cola Zanuncio. Coorientadores: José Eduardo Serrão, Teresinha Vinha Zanuncio e Germano Leão Demolin Leite.

Cucurbitaceae apresenta plantas dicotiledôneas com importância alimentícia, econômica e social. *Diaphania hyalinata* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Crambidae), pode causar perdas na produção por danos à folhas e frutos e se destaca entre as pragas dessa família. Seu controle é realizado principalmente com inseticidas químicos, porém métodos menos agressivos ao ambiente vem sendo estudados. O objetivo deste trabalho foi avaliar o desenvolvimento de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), o efeito da densidade de parasitismo e da idade da pupa na reprodução desse parasitoide no hospedeiro natural *D. hyalinata*, além de avaliar a toxicidade de óleos essenciais e do produto comercial Azamax[®] nas fases de ovo, lagarta e pupa dessa praga. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LCBI) do Instituto de Biotecnologia Aplicada a Agropecuária (BIOAGRO) da Universidade Federal de Viçosa (UFV) em Viçosa, Minas Gerais. No primeiro estudo, aspectos reprodutivos de *T. diatraeae* foram avaliados. Dez pupas de *D. hyalinata* com 48 horas de idade foram individualizadas e expostas ao parasitismo por dez fêmeas do parasitoide, cada uma, por 24 horas. O parasitismo e a emergência de progênie foram de 100% e 90%, respectivamente. A duração do ciclo de vida de *T. diatraeae* foi de $19,11 \pm 0,11$ dias com $167,78 \pm 23,79$ descendentes por pupa e razão sexual de $0,94 \pm 0,01$. No segundo estudo, cada tratamento (densidade de parasitoide e idade de pupa) teve 12 repetições. Pupas de *D. hyalinata* foram expostas a diferentes densidades de fêmeas de *T. diatraeae* (1:1, 4:1, 8:1, 12:1, 16:1, 20:1 e 24:1) por 24h. A densidade do parasitoide não afetou a porcentagem de parasitismo e a emergência de *T. diatraeae*. O aumento da densidade de *T. diatraeae* reduziu a progênie, razão sexual, longevidade e a cápsula céfalica de fêmeas e machos desse parasitoide. A duração do ciclo de *T. diatraeae* foi proporcional ao aumento da densidade de suas fêmeas. O efeito da idade de pupas foi avaliado com estas isoladas com diferentes idades (24, 48, 72, 96, 120 e 144h) e expostas por 24h a oito parasitoides cada uma. A idade das pupas de *D. hyalinata* não afetou a porcentagem de emergência, o parasitismo, a razão sexual e a longevidade (fêmeas e macho) de *T.*

diatraeae. O aumento da idade das pupas reduziu a descendência, ciclo de vida e a cápsula cefálica de *T. diatraeae*. No terceiro estudo, cada fase do desenvolvimento de *D. hyalinata* recebeu diferentes concentrações de óleos essenciais (canela, cravo, laranja) e do produto Azamax[®] (variando de 0,25% a 25%) diluídos em acetona e o controle teve, apenas, acetona. Discos de papel com 20 ovos foram pulverizados com cada material, utilizando-se quatro discos por tratamento, cada um representando uma repetição. Discos de folhas de abóbora foram imersos em cada tratamento e oferecidos às lagartas no terceiro estágio de *D. hyalinata*, com quatro repetições de 10 lagartas cada. Pupas dessa praga foram imersas por cinco segundos em cada um dos tratamentos, com quatro repetições de 10 pupas cada. As CL₅₀ de 1,70; 0,97; 40,08 e 1,18 µL/ml para ovos, e 14,07; 48,92; 90,31 e 6,18 µL/ml para pupas e CL₉₀ de 6,17; 2,38 e 648,50 e 15,67 µL/ml para ovos e 269,06; 642,23; 1079,63 e 16,08 µL/ml para pupas respectivamente, foram estimados para os óleos de canela, cravo, laranja e do produto Azamax[®]. Apenas a toxicidade dos óleos de canela e cravo com valores para CL₅₀ de 10,82 e 18,75 µL/ml respectivamente e CL₉₀ para os óleos de cravo (46,21 µL/ml) e canela (37,21 µL/ml) foram estimados para lagartas de *D. hyalinata* devido à baixa mortalidade nos outros tratamentos até o tempo avaliado. *Trichospilus diatraeae* parasitou e produziu progênie em pupas de *D. hyalinata* e apresenta potencial para seu controle por não discriminar pupas por idade e até oito parasitoides por pupa são favoráveis para o desenvolvimento desse parasitoide. O produto comercial Azamax[®] mostrou potencial para o controle dessa praga. O óleo de canela foi mais tóxico nas fases de lagarta e pupa e o de cravo mais tóxico para ovos de *D. hyalinata*.

ABSTRACT

SILVA, Isabel Moreira da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2012. **Natural products and *Trichospilus diatraeae* parasitoid (Hymenoptera: Eulophidae) in control *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae).** Adviser: José Cola Zanuncio. Co-advisers: José Eduardo Serrão, Teresinha Vinha Zanuncio and Germano Leão Demolin Leite.

The family Cucurbitaceae presents dicotyledonous plants with food, economic and social importance. *Diaphania hyalinata* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Crambidae) can reduce yield by damaging leaves and fruits of these plants. This pest is controlled primarily with chemical insecticides, but less aggressive methods are been studied. The aim was to evaluate the development of *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae), the effects of density on parasitism age of the pupae of *D. hyalinata* on reproduction of the parasitoid, besides evaluating the toxicity of both essential oils and the commercial product Azamax[®] on eggs, larvae and pupae of this pest. The experiments were developed at the Laboratory of Biological Control of Insects (LCBI) of the Institute of Biotechnology Applied to Agriculture (BIOAGRO) of the University Federal of Viçosa (UFV) in Viçosa, Minas Gerais. In the first study, reproductive aspects of *T. diatraeae* were evaluated. Ten 48 hours old *D. hyalinata* pupae were individualized and exposed to parasitism by ten females of this parasitoid during 24 hours. The parasitism and emergence of the progeny was 100% and 90% respectively. Duration of the life cycle of *T. diatraeae* was 19.11 ± 0.11 days with 167.78 ± 23.79 offspring per pupae and sex ratio of 0.94 ± 0.01 . The second study (parasitoid density and age of pupae) had 12 replications per treatment. Pupae of *D. hyalinata* were exposed to different densities of *T. diatraeae* (1:1, 4:1, 8:1, 12:1, 16:1, 20:1 and 24:1) females for 24 hours. Parasitoid density did not affect percentage of parasitism and emergence of *T. diatraeae*. Increasing density of *T. diatraeae* reduced progeny, sex ratio, longevity and width of head capsule of females and males of this parasitoid. The duration of the life cycle of *T. diatraeae* was proportional to density increased of its females. The effect of pupae age was assessed with isolating them with different ages (24, 48, 72, 96, 120 and 144h) and being exposed for 24 hours to eight parasitoids each. Age of *D. hyalinata* pupae did not affect percentage of emergence, parasitism, sex ratio and longevity of *T. diatraeae* females and males. Increasing pupae age reduced offspring, life cycle and head capsule of *T. diatraeae*. In the third study, each development stage of *D. hyalinata* received different concentrations of essential

oils of cinnamon, clove, orange and the Azamax[®] product (0.25% to 25%) dissolved in acetone and the control with only, acetone. Paper disks containing 20 eggs were sprayed with each material on four disks per treatment each representing a replication. Squash leaves were immersed pretreatment and provided to third instar *D. hyalinata* caterpillars of with four replications of 10 larvae each. Moth pupae were immersed for five seconds in each treatment, with four replications of 10 pupae each. The LC₅₀ was 1.70, 0.97, 40.08 and 1.18 µL/ml for eggs, 14.07, 48.92, 90.31 and 6.18 µL/ml for pupae and LC₉₀ was 6.17, 2.38, 648.50 and 15.67 µL/ml for eggs and 269.06, 642.23, 1079.63 and 16.08 µL/ml for pupae, respectively, with cinnamon, clove and orange oils and Azamax[®]. The toxicity of cinnamon and clove oils had values for LC₅₀ of 10.82 and 18.75 µL/ml respectively and for the LC₉₀ of clove oil (46.21 µL/ml) and cinnamon (37.21 µL/ml) were estimated for caterpillars of *D. hyalinata* due to the low mortality on the other treatments. *Trichospilus diatraeae* parasitized and produced offspring in pupae of *D. hyalinata* and have the potential to control pupae of this insect. Pupae age is not discriminate by this the parasitoid and up to eight parasitoids per pupae are favorable for its development. The commercial product Azamax[®] has potential to control this pest. The cinnamon oil was more toxic for larvae and pupae and clove oils more toxic to eggs of *D. hyalinata*.

Introdução Geral

A olericultura inclui bulbos, frutos, folhosas, raízes e tubérculos ricos em substâncias com propriedades funcionais na prevenção e controle de doenças (Achu et al., 2005). A família Cucurbitaceae inclui espécies de importância econômica para o país, principalmente em regiões tropicais com, cerca de, 118 gêneros e 825 espécies (Lira et al., 2005) constituindo alimentos ricos em nutrientes, açúcares, vitaminas e amido (Kim et al., 2012). No Brasil, a melancia (*Citrullus lanatus*), abóbora (*Cucurbita moschata*), abobrinha (*Cucurbita pepo*) e moranga (*Cucurbita maxima*), ocupam parcela significativa do agronegócio brasileiro, estimado em R\$ 300 milhões anuais (Leite et al., 2011).

Plantas da família Cucurbitaceae são atacadas por pragas em, praticamente, todo o ciclo vegetativo e reprodutivo levando a perdas na produção (Dhillon et al., 2005; Baccia et al., 2006; Hans Petersen et al., 2010). *Diaphania* spp. são pragas chave e danificam folhas, ramos, brotos e frutos de Cucurbitaceae (Moura et al., 2008; Hans Petersen et al., 2010).

Diaphania nitidalis (Cramer, 1782) (Lepidoptera: Crambidae) ataca preferencialmente frutos, o que torna o controle mais difícil, seus danos estão relacionados à abertura de galerias e apodrecimento da polpa, inviabilizando a comercialização (Moura et al., 2008), enquanto *Diaphania hyalinata* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Crambidae) prefere folhas e hastes (Hans Petersen et al., 2010) reduzindo a área fotossintética e, conseqüentemente, a produtividade (Guillaume e Boissot, 2001). Redução da área foliar por imaturos de *D. hyalinata* diminuíram o peso dos frutos de abóbora (McSorley e Waddill, 1982).

Diaphania hyalinata apresenta ampla distribuição geográfica no continente americano (Surís et al., 1997; Gonring et al., 2003; Moura et al., 2008; Melo et al., 2011). Este inseto sofre metamorfose completa, com as fases de ovo, lagarta, crisálida e adulto. Mariposas apresentam 30 mm de envergadura e 15 mm de comprimento, asas com coloração branca semitransparentes no centro e faixa escura retilínea nos bordos. Fêmeas ovipositam nas folhas, ramos, flores ou frutos e as lagartas eclodem em três a quatro dias com coloração esverdeada e duas listras brancas em estágio mais avançado passando por cinco instares com duração de 10 a 14 dias. A fase de pupa ocorre no solo ou sobre folhas secas. O período completo do ciclo é de 25 a 30 dias. Variações na

duração dos estádios podem ocorrer em razão das condições ambientais (Hernández et al., 1995; Moura et al., 2008).

O controle de *D. hyalinata* é realizado principalmente com inseticidas químicos, o que aumenta o custo de produção e pode causar problemas como o ressurgimento de pragas, resistência de insetos, morte de inimigos naturais e intoxicação do homem, da água e do solo (Guillaume e Boissot, 2001; Isman, 2000, 2006).

Inseticidas sintéticos podem deixar resíduos tóxicos nos alimentos o que leva a pressão da sociedade por produtos livres de agrotóxicos e estratégias com menor impacto para o ambiental e a saúde (Moreira et al., 2007; Brunherotto et al., 2010). O controle biológico e os inseticidas botânicos são citados com exemplos para o manejo integrado de praga (Venzon et al., 2007; Pereira et al., 2008; Birah et al., 2010; Zaché et al., 2010; Luna et al., 2011).

Eulophidae, a maior família em Chalcidoidea, tem 4.472 espécies de 297 gêneros em áreas temperadas e tropicais caracterizados como ectoparasitas (Eulophinae e Euderinae) ou endoparasitas (Entedoninae e Tetrastichinae) (Talebi et al., 2011) de ovos, larvas ou pupas (Fernandes et al., 2010; Pereira et al., 2010; Pratisoli et al., 2010; Polanczyk et al., 2011).

Trichospilus diatraeae Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), originário da Ásia, parasita pupas, principalmente, da ordem Lepidoptera (Ubaidillah, 2006; Pereira et al., 2008). Sua ocorrência foi registrada em 1942 na Índia em *Diatraea venosata* (Walker) (Lepidoptera: Crambidae) (Cherian e Margabandhu, 1942) e no Brasil, pela primeira vez, em pupas de Lepidoptera da família Arctiidae (Paron e Berti-Filho, 2000).

O hábito generalista de *T. diatraeae* proporciona a esse inimigo natural promissor no controle de pragas, porém suas características biológicas e capacidade reprodutiva podem ser afetadas por fatores climáticos, disponibilidade de alimentos e aspectos relacionados à densidade de parasitismo e a qualidade e idade do hospedeiro (Brodeur e Boivin, 2004; Pandey e Tripathi, 2008; Chaisaeng et al., 2010). Porém testes em laboratório são necessários para verificar o desempenho de inimigos naturais na praga alvo antes de liberações em campo (Paron e Berti-Filho, 2000; Wang e Liu, 2002; Foelkel et al., 2008; Duan et al., 2011).

Fatores bióticos, como a densidade do parasitoide por pupa e idade do hospedeiro podem afetar a produção de descendentes (Matos Neto et al., 2004), a porcentagem de emergência (Pereira et al., 2010), a razão sexual da progênie (Choi et

al., 2001), a duração do ciclo (Gu et al., 2003) e a capacidade de parasitismo (Pereira et al., 2010).

Plantas com propriedades inseticidas podem, também, ser usadas no controle de pragas, principalmente, em cultivos orgânicos e na agricultura familiar (Coitinho et al., 2011).

Plantas das famílias Asteraceae, Lauraceae, Meliaceae, Myrtaceae, Piperaceae e Rutaceae apresentam ampla diversidade no Brasil e possuem compostos secundários que causam repelência, deterrência na alimentação e oviposição, interferência no desenvolvimento e mortalidade de pragas, tornando-as promissoras para descoberta de novos inseticidas botânicos (Huang et al., 2002; Viegas Jr., 2003; Isman, 2006; Birah et al., 2010; Paranagama e Gunasekera, 2011).

Estudos com extratos botânicos ou óleos essenciais em organismos pragas visam à obtenção de moléculas com propriedades inseticidas para formulação de produtos sintéticos ou o uso direto no controle de pragas (Isman, 2000; Viegas Jr, 2003; Jayaprakasha e Rao, 2011).

Óleos essenciais podem ser inibidores da alimentação, tóxicos ou interferir na biologia da espécie-alvo (Isman, 2006; Seljasen e Meadow, 2006; Bizzo et al., 2009; Birah et al., 2010). A ação negativa nos insetos está relacionada a compostos secundários presentes em plantas para defesa contra microrganismos e insetos herbívoros (Chapman, 2003). O composto azadiractina do nim (Schmutterer, 1990; Isman, 2006); o engenol de plantas de cravo e canela (Costa et al., 2005; Jayaprakasha e Rao, 2011) e o limoneno de citros (Karr e Costs, 1988; Tripathi et al., 2003) são citados como exemplos. Extrato de nim e óleos de cravo, canela e laranja podem causar repelência, fago-inibição e morte em insetos (El-Sayed et al., 1991; Andrade-Coelho et al., 2009; Brunherotto et al., 2010; Paranagama et al., 2011; Ribeiro et al., 2010; Coitinho et al., 2011).

Algumas plantas têm sido testadas para o manejo de *D. hyalinata*, extratos aquosos de folhas e sementes de cinamomo e de folhas de pessegueiro bravo + pimenteira não foram eficientes para controle desta praga (Bavaresco, 2007). Porém extratos de *Ageratum conyzoides* apresentou atividade inseticida contra essa espécie praga (Moreira et al., 2007). O que demonstra efeitos adversos dos produtos naturais usados de acordo com a espécie de planta usada, assim, inseticidas naturais devem ser estudados a fim de maximizar a eficiência no controle de *D. hyalinata*.

O mercado cada vez mais exigente demanda produtos livres de agrotóxicos, o que pode ser conseguido através de inseticidas botânicos e inimigos naturais no controle de pragas, contribuindo para a sustentabilidade da produção agrícola e a redução do uso de inseticidas sintéticos.

A necessidade de métodos alternativos de controle de *D. hyalinata* justifica a realização desse trabalho com objetivo de avaliar o desenvolvimento do parasitoide *T. diatraeae* em pupas desse hospedeiro natural e a toxicidade do produto comercial a base de nim (*Azadirachta indica*) (Azamax[®]) e dos óleos essenciais de cravo (*Syzygium aromaticum*), canela (*Cinnamomum zeylanicum*) e laranja (*Citrus sinensis*) para controle dessa praga.

A introdução desta tese está de acordo com as normas da revista científica “Pesquisa Agropecuária Brasileira”, com adaptações para as “Normas de Redação de Tese” da Universidade Federal de Viçosa.

Referências

- ACHU, M.B.; FOKOU, E.; TCHIÉGANG, C.; FOTSO, M.; TCHOUANGUEP, F.M. Nutritive value of some Cucurbitaceae oilseeds from different regions in Cameroon. **African Journal of Biotechnology**, v.4, p.1329-1334, 2005.
- ANDRADE-COELHO, C.A.; SOUZA, N.A.; GOUVEUA, C.; SILVA, V.C.; GONZALEZ, M.S.; RANQUEL, E.F. Effect of fruit and leaves of Meliaceae plants (*Azadirachta indica* and *Melia azedarach*) on the development of *Lutzomyia longipalpis* larvae (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) under experimental conditions. **Journal of Medical Entomology**, v.46, p.1125-1130, 2009.
- BACCIA, L.; PICANÇO, M.C.; GONRINGA, A.H.R.; GUEDES, R.N.C.; CRESPO A.L.B. Critical yield components and key loss factors of tropical cucumber crops. **Crop Protection**, v.25, p.1117-1125, 2006.
- BAVARESCO, A. Efeito de tratamentos químicos alternativos no controle de *Diaphania* spp. (Lepidoptera: Crambidae) em pepino. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.29, p.309-313, 2007.
- BIRAH, A.; SHARMA, T.V.R.S.; SINGH, S.; SRIVASTAVA, R.C. Effect of aqueous leaf extract of cloves (*Syzygium aromaticum*) on growth and development of tobacco caterpillar (*Spodoptera litura*). **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v.80, p.534-537, 2010.
- BIZZO, H.R.; HOVELL, A.M.C.; REZENDE, C.M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v.32, p.588-594, 2009.
- BRODEUR, J.; BOIVIN, G. Functional ecology of immature parasitoids. **Annual Review of Entomology**, v.49, p.27-49, 2004.
- BRUNHEROTTO, R.; VENDRAMIM, J.D.; ORIANI, M.A.G. Efeito de genótipos de tomateiro e de extratos aquosos de folhas de *Melia azedarach* e de sementes de *Azadirachta indica* sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Neotropical Entomology**, v.39, p.784-791, 2010.
- CHAISAENG, P.; CHONGRATTANAMETEEKUL, W.; VISARATHANONTH, P.; VAJARASATHIARA, B. Laboratory studies on control of the maize weevil *Sitophilus zeamais* by the parasitoid *Anisopteromalus calandrae*. **Science Asia**, v.36, p.6-11, 2010.
- CHAPMAN, R.F. Contact chemoreception in feeding by phytophagous insects. **Annual Review of Entomology**, v.48, p.455-484, 2003.

CHERIAN, M.C.; MARGABANDHU, V. A new species of *Trichospilus* (Hymenoptera: Chalcidoidea) from South India. **Indian Journal of Entomology**, v.4, p.101-102, 1942.

CHOI, W.I.; YOON, T.J.; RYOO, M.I. Host-size-dependent feeding behaviour and progeny sex ratio of *Anisopteromalus calandrae* (Hym., Pteromalidae). **Journal of Applied Entomology**, v.125, p.71-77, 2001.

COITINHO, R.L.B.C.; OLIVEIRA, J.V.; JUNIOR, M.G.C.G.; CÂMARA, A.G. Toxicidade por fumigação, contato e ingestão de óleos essenciais para *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885 (Coleoptera: Curculionidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, p.172-178, 2011.

COSTA, J.G.M.; RODRIGUES, F.F.G.; ANGÉLICO, E.C.; SILVA, M.R.; MOTA, M.L.; SANTOS, N.K.A.; CARDOSO, A.L.H., LEMOS, T.L.G. Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidóides* e *Syzigium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, p.304-309, 2005.

DHILLON, M.K.; SINGH, R.; NARESH, J.S.; SHARMA, H.C. The melon fruit fly, *Bactrocera cucurbitae*: A review of its biology and management. **Journal of Insect Science**, v.5, Article n.40, 2005.

DUAN, J.J.; OPPEL, C.B.; ULYSHEN, M.D.; BAUER, L.S.; LELITO, J. Biology and life history of *Tetrastichus planipennis* (Hymenoptera: Eulophidae) a larval endoparasitoid of the emerald ash borer (Coleoptera: Buprestidae). **Florida Entomologist**, v.94, p.933-940, 2011.

EL-SAYED, F.M.A.; ABDEL-RAZIK, M. Citrus oils as protectant against infestation by *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). **Bulletin of the Entomology Society of Egypt**, v.14, p.423-427, 1991.

FERNANDES, L.B.R.; DIAS FILHO, M. M.; FERNANDES, M. A.; PENTEADO-DIAS, A.M. Ichneumonidae (Hymenoptera) parasitoids of Lepidoptera caterpillars feeding on *Croton floribundus* Spreng (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.54, p.263-269, 2010.

FOELKEL, E.; REDAELLI, L.R.; JAHNKE, S. M.; LOSEKANN, P.B. Biological aspects of *Cirrospilus neotropicus* Diez & Fidalgo (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoid of *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae). **Neotropical Entomology**, v.37, p.279-87, 2008.

- GONRING, A.H.R.; PICANCO, M.C.; GUEDES, R.N.C.; SILVA, E.M. Natural biological control and key mortality factors of *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Pyralidae) in cucumber. **Biocontrol Science and Technology**, v.13, p.361-366, 2003.
- GU, H.; WANG, Q.; DORN, S. Superparasitism in *Cotesia glomerata*: response of host and consequences for parasitoids. **Ecological Entomology**, v.28, p.422-431, 2003.
- GUILLAUME, R.; BOISSOT, N. Resistance to *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae) in Cucumis species. **Journal of Economic Entomology**, v.94, p.719-723, 2001.
- GUILLAUME, R.; BOISSOT, N. Resistance to *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae) in Cucumis species. **Journal of Economic Entomology**, v.94, p.719-723, 2001.
- HANSPETERSEN, H.N.; MCSORLEY, R.; LIBURD, O.E. The impact of intercropping squash with non-crop vegetation borders on the above-ground arthropod community. **Florida Entomologist**, v.93, p.590-608, 2010.
- HERNÁNDEZ, Y.; SURÍS, M.; LÓPEZ, M. Ciclo de vida y reproducción de *Diaphania hyalinata* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) en condiciones de laboratorio. **Revista de Protección Vegetal**, v.10, p.241-246, 1995.
- HUANG, Y.; HO, S.H.; LEE, H.C.; YAP, Y.L. Insecticidal properties of eugenol, isoeugenol and methyleugenol and their effects on nutrition of *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Stored Products Research**, v.38, p.403-412, 2002.
- ISMAN, M.B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, v.9, p.603-608, 2000.
- ISMAN, M.B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v.51, p.45-66, 2006.
- JAYAPRAKASHA, G.K.; RAO, L.J.M. Chemistry, biogenesis, and biological activities of *Cinnamomum zeylanicum*. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.51, p.547-562, 2011.
- KARR, L.L.; COATS, J.R. Insecticidal properties of d-limonene. **Journal of Pest Science**, v.13, p.287-290, 1988.
- KIM, M.Y.; KIM, E. J.; KIM, Y.N.; CHOI, C.; LEE, B.H. Comparison of the chemical compositions and nutritive values of various pumpkin (Cucurbitaceae) species and parts. **Nutrition Research and Practice**, v.6, p.21-27, 2012.

LEITE, G.L.D.; MOREIRA, E.D.S.; MOTA, V.A.M.; FERREIRA, I.C.P.V.; COSTA, C.A. Artrópodes fitófagos e predadores associados em 20 acessos *Luffa* sp. em sistema orgânico. **Revista Ciência Agronômica**, v.42, p.986-992, 2011.

LIRA, R.; VILLASENOR, J.L.; ORTIZ, E. A proposal for the conservation of the family Cucurbitaceae in Mexico. **Biodiversity and Conservation**, v.11, p.1699-1720, 2005.

LUNA, M.G.; WADA, V.I.; LA SALLE, J.; SANCHEZ, N.E. *Neochrysocharis formosa* (Westwood) (Hymenoptera: Eulophidae), a newly recorded parasitoid of the tomato moth, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), in Argentina. **Neotropical Entomology**, v.40, p.412-414, 2011.

MATOS NETO, F.C.; CRUZ, I.; ZANUNCIO, J.C.; SILVA, C.H.O.; PICANÇO, M.C. Parasitism by *Campoletis flavicincta* on *Spodoptera frugiperda* in corn. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.1077-1081, 2004.

MCSORLEY, R.; WADDILL, V.H. Partitioning yield loss on yellow squash into nematode and insect components. **Journal of Nematology**, v.14, p.110-118, 1982.

MELO, R.L.; PRATISOLI, D.; POLANCZYK, R.A.; TAVARES, M.; MILANEZ, A.M.; MELO, D.F. Ocorrência de *Trichospilus diatraeae* (Hym.: Eulophidae) em broca das cucurbitáceas, no Brasil. **Horticultura Brasileira**, v.29, p.228-230, 2011.

MOREIRA, M.D.; PICANÇO, M.C.; BARBOSA, L.C.A.; GUEDES, R.N.C.; BARROS, E.C.; CAMPOS, M. R. Compounds from *Ageratum conyzoides*: isolation, structural elucidation and insecticidal activity. **Pest Management Science**, v.63, p.615-621, 2007.

MOURA, V.H.M.C.; FILHO A.M.F.; FILHO J.U.T.B.; HORA, R.C.; SANTOS, H.S. Eficiência de inseticidas no controle da broca das cucurbitáceas (*Diaphania nitidalis*) na cultura da abóbora. **Horticultura Brasileira**, v.26, p.1147-1151, 2008.

PANDEY, A.K.; TRIPATHI, C.P.M. Effect of temperature on the development, fecundity, progeny sex ratio and life-table of *Campoletis chlorideae*, an endolarval parasitoid of the pod borer, *Helicoverpa armigera*. **BioControl**, v.53, p.461-471, 2008.

PARANAGAMA, P.A.; GUNASEKERA, J.J. The efficacy of the essential oils of sri lankan *Cinnamomum zeylanicum* fruit and *Micromelum minutum* leaf against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Essential Oil Research**, v.23, p.75-82, 2011.

PARON, M.R.; BERTI-FILHO, E. Capacidade reprodutiva de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de diferentes hospedeiros (Lepidoptera). **Scientia Agricola**, v.57, p.355-358, 2000.

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 *Thyrinteina arnobia* in Brazil. **Phytoparasitica**, v.36, p.304-306, 2008.

PEREIRA, F.F.; ZANUNCIO, J.C.; SERRÃO, J.E.; ZANUNCIO, T.V.; PRATISSOLI, D.; PASTORI, P.L. The density of females of *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.82, p.323-231, 2010.

POLANCZYK, R.A.; BARBOSA, W.F.; CELESTINO, F.N.; PRATISSOLI D.; HOLTZ, A.M.; MILANEZ, A.M.; COCHETO, J.G.; DA SILVA, A.F. Influência da densidade de ovos de *Diaphania hyalinata* (L.) (Lepidoptera: Crambidae) na capacidade de parasitismo de *Trichogramma exiguum* Pinto & Platner e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Neotropical Entomology**, v.40, p.238-243, 2011.

PRATISSOLI, D.; MILANEZ, A.M.; BARBOSA, W.; COLESTINO, F.N.; ANDRADE, G.S.; POLANCZK, R.A. Side effects of fungicides used in cucurbitaceous crop on *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Chilean Journal of Agricultural Research**, v.70, p.323-327, 2010.

RIBEIRO, N.D. ; CAMARA, C.A.G.; BORN, FD ; de SIQUEIRA, H.A.A. Insecticidal activity against *Bemisia tabaci* Biotype B of peel essential oil of *Citrus sinensis* var. pear and *Citrus aurantium* cultivated in Northeast Brazil. **Natural Product Communications**, v.5, p.1819-1822, 2010.

SCHMUTTERER, H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. **Annual Review of Entomology**, v.35, p.271-297, 1990.

SELJASEN, R.; MEADOW, R. Effects of neem on oviposition and egg and larval development of *Mamestra brassicae* L: Dose response, residual activity, repellent effect and systemic activity in cabbage plants. **Crop Protection**, v.25, p.338-345, 2006.

SURÍS, M.; HERNÁNDEZ, Y.; LOPEZ, M. Comportamiento poblacional de *Diaphania hyalinata* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) en calabaza. **Revista de Protección Vegetal**, v.12, p.39-45, 1997.

- TALEBI, A.A.; KHORAMABADI, A.M.; RAKHSHANI, E. Checklist of eulophid wasps (Insecta: Hymenoptera: Eulophidae) of Iran. **Check List: Journal of Species Lists and Distribution**, v.7, p.708-719, 2011.
- TRIPATHI, A.K.; PRAJAOATI, V.; KHANUJA, S.P.; KUMAR, S. Effect of *d*-Limonene on three stored-product beetles. **Journal of Economic Entomology**, v.96, p.990-995, 2003.
- UBAIDILLAH, R. Eulophine parasitoids of the genus *Trichospilus* in Indonesia, with the description of two new species (Hymenoptera: Eulophidae). **Entomological Science**, v.9, p.217-222, 2006.
- VENZON, M.; ROSADO, M.C.; PALLINI, A.; FIALHO, A.; PEREIRA, C.J. Toxicidade letal e subletal do nim sobre o pulgão-verde e seu predador *Eriopis connexa*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, p.627-631, 2007.
- VIEGAS, C. Jr. Terpenos com atividade inseticida: Uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v.26, p.390-400, 2003.
- WANG, X.G.; LIU, S.S. Effects of host age on the performance of *Diadromus collaris*, a pupal parasitoid of *Plutella xylostella*. **Biological Control**, v.47, p.293-307, 2002.
- 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**, v.38, p.355-357, 2010.

CAPITULO I

Desenvolvimento e reprodução de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae)

Nota Científica

Desenvolvimento e reprodução de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae)

Resumo - O endoparasitóide gregário *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu; 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) foi relatado em campo parasitando pupas de *Diaphania hyalinata* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Crambidae) em condições naturais, tornando-o promissor no controle biológico dessa praga. O objetivo deste trabalho foi avaliar a reprodução e o desenvolvimento de *T. diatraeae* no hospedeiro natural *D. hyalinata*. Dez pupas de *D. hyalinata* ($112,2 \pm 1,78$ mg), com 48 horas de idade, foram individualmente expostas ao parasitismo por 10 fêmeas de *T. diatraeae* com 72 horas de idade por 24 horas. O parasitismo foi de 100% em pupas de *D. hyalinata* com 90% de emergência da progênie. A duração do ciclo de vida (ovo-adulto) foi de $19,11 \pm 0,11$ dias. A progênie foi de $167,78 \pm 23,79$ descendentes por pupa e a razão sexual de $0,94 \pm 0,01$. *Trichospilus diatraeae* apresenta potencial para o controle de pupas de *D. hyalinata*.

Termos para indexação: Controle biológico aplicado, *Diaphania hyalinata*, Lepidoptera, Parasitoide pupal.

Abstract - The gregarious endoparasitoid *Trichospilus diatraeae* Margabandhu & Cherian, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) was reported in pupae of *Diaphania hyalinata* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Crambidae) under natural conditions, making it a promising biological control agent of this pest. The aim of this study was to evaluate breeding and development of *T. diatraeae* on the natural host *D. hyalinata*. Ten pupae of *D. hyalinata* (112.2 ± 1.78 mg), with 48 hours old were individually exposed to parasitism by 10 *T. diatraeae* 72 hours old females with 24 hours. Parasitism was 100% in pupae of *D. hyalinata* with 90% emergence of progeny. Duration of the life cycle (egg to adult) was 19.11 ± 0.11 days. Progeny was 167.78 ± 23.79 individuals per pupae and the sex ratio was 0.94 ± 0.01 . *Trichospilus diatraeae* has potential to control pupae of *D. hyalinata*.

Index terms: Biological control, *Diaphania hyalinata*, Lepidoptera, pupal parasitoid

As brocas das cucurbitáceas *Diaphania hyalinata* (Linnaeus, 1758) e *Diaphania nitidalis* (Cramer, 1782) (Lepidoptera: Crambidae) podem danificar plantas da família Cucurbitaceae (Moura et al., 2008; Hanspetersen et al., 2010). Suas lagartas abrem galerias nos frutos causando o apodrecimento da polpa, deixando-os impróprios para o consumo e facilitando a entrada de patógenos (Gonring et al., 2003), enquanto os danos em folhas reduzem a área fotossintética e o potencial produtivo da planta (McSorley e Waddill, 1982; Hanspetersen et al., 2010).

Cucurbitaceae são atacadas por pragas, praticamente, durante todo o ciclo fenológico, levando ao uso de agrotóxicos, podendo deixar nos frutos, normalmente, consumidos in natura, grande quantidade de resíduos. Além disso, o controle químico pode afetar os inimigos naturais, impactar o meio ambiente e ocasionar a resistência e ressurgimento de pragas (Schreiner, 1991; Guillaume e Boissot, 2001; Baptista et al., 2008; Tran e Ueno, 2012).

Inseticidas químicos podem, também, comprometer a polinização natural das Cucurbitaceae (Serra e Campos, 2010), plantas dessa família, geralmente, apresentam flores unissexuais com pólen pesado e pegajoso impedidos de serem transferidos pelo vento, necessitando de um vetor para assegurar a polinização (Nepi e Pacini, 1993; Malerbo-Souza et al., 1999).

Parasitoides, predadores e entomopatógenos (fungos, bactérias e vírus), no manejo de pragas em sistemas agrícolas sustentáveis, podem regular populações de pragas (Gonring et al., 2003; Castillo et al., 2009; Aruna e Manjunath, 2010). *Diaphania hyalinata* pode ser controlada por inimigos naturais nas fases de ovo, lagarta e pupa (Gonring et al., 2003; Melo et al., 2007, 2011; Polanczyk et al., 2011). Pupas dessa espécie foram predadas em campo por *Labidus coecus* (Latreille, 1802) (Hymenoptera: Formicidae) e *Hogna* sp. (Araneae: Lycosidae) e parasitadas por *Polycyrtus* sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae) e *Trichospilus diatraeaea* Cherian & Margabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) (Gonring et al., 2003; Melo et al., 2011).

O sucesso do parasitismo está relacionado a fatores que garantam a reprodução e a continuidade da espécie, como a localização, seleção e superação da resposta imune do hospedeiro (Andrade et al., 2010), além de nutrientes para suas necessidades fisiológicas e nutricionais (Brodeur e Boivin, 2004). Parasitoides da família Eulophidae emergiram em pupas de *Bombyx mori* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Bombycidae), *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) (Pereira et al., 2010a), *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae) (Zanuncio et al., 2008) e

Sarsina violascens (Herrich-Schaeffer, 1856) (Lepidoptera: Lymantriidae) (Zaché et al., 2011b).

Trichospilus diatraeae é um parasitoide generalista preferencialmente de pupas de Lepidoptera. Esse inimigo natural parasitou em campo pupas de *D. hyalinata*, mostrando seu potencial para o controle dessa praga (Melo et al., 2011), mas parâmetros biológicos desse parasitoide em *D. hyalinata* não são conhecidos. Por tanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o desenvolvimento e reprodução de *T. diatraeae* em pupas de *D. hyalinata*.

Trichospilus diatraeae e *D. hyalinta* tem sido mantidos em criações massais laboratório de Controle Biológico de Insetos do Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais. Dez pupas de *D. hyalinata* ($112,2 \pm 1,78$ mg), com 48 horas de idade, foram individualmente expostas ao parasitismo em tubos de vidro (2,2 x 14,0 cm) por dez fêmeas de *T. diatraeae* (densidade do parasitoide determinada de acordo com o peso do hospedeiro) com 72 horas de idade em sala climatizada a $25 \pm 2,2$ °C, $70 \pm 10,8\%$ de umidade relativa e fotofase de 12 horas (Pereira et al., 2010a).

Após 24 horas, as fêmeas de *T. diatraeae* foram retiradas dos tubos, as pupas mantidas nas mesmas condições controladas até o final do experimento e a emergência, dos descendentes, foi observada diariamente (Pereira et al., 2010a).

A duração do ciclo de vida (ovo-adulto), a porcentagem de parasitismo, a porcentagem de emergência, o número de descendente e a razão sexual (RS= número de fêmeas/número de adultos) foram avaliados (Pereira et al., 2010b). O sexo dos adultos foi determinado com base na morfologia da antena e abdome dos parasitoides (Paron, 1999).

Trichospilus diatraeae parasitou *D. hyalinata* e inviabilizou a emergência desse hospedeiro de 100% das pupas oferecidas. Pupas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Pyralidae), *A. gemmatalis*, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) e *Heliothis virescens* (Fabricius, 1777) (Lepidoptera: Noctuidae), *Euselasia eucerus* (Hewitson, 1872) (Lepidoptera: Riordinidae) e *S. violascens* apresentaram parasitismo de 95,3 a 100% por esse parasitoide. (Paron e Berti-Filho, 2000; Zaché et al., 2011a; Zaché et al., 2011b). Isto demonstra o potencial de *T. diatraeae* para o controle de diferentes famílias de Lepidoptera praga, caracteriza seu hábito generalista e permite sua permanência no campo mesmo quando o hospedeiro preferido estiver em baixa população.

A porcentagem de emergência foi de 90%. Isto indica que *T. diatraeae* superou a resposta imunológica das pupas (mecanismo de defesa de pupa para encapsular ovos do parasitoide) (Schmid-Hempel, 2005; Li et al., 2007; Andrade et al., 2010). Sugerindo qualidade nutricional adequada das pupas e baixa capacidade de defesa de *D. hyalinata* favorecendo o desenvolvimento dos imaturos dos parasitoides. Porém, a qualidade do hospedeiro não é o único fator que influencia a emergência, e variações neste parâmetro foram relatados em decorrência do aumento da densidade (dois para 20 parasitoides) (Chaisaeng et al., 2010), idade da fêmea (1, 4 e 20 dias de idade) (Aung et al., 2010) e idade do hospedeiro (17 a 96h) (Imandeh, 2006).

A progênie de *T. diatraeae* foi proporcional ao peso da pupa quando comparada a outros hospedeiros com $167,78 \pm 23,79$ descendentes por pupa de *D. hyalinata* e $208,3 \pm 4,5$; $194,7 \pm 6,8$; $186,7 \pm 2,8$; $170,7 \pm 1,3$ em pupas de *S. frugiperda*, *D. saccharalis*, *A. gemmatalis* e *H. virescens* respectivamente (Paron e Berti-Filho, 2000), mostrando ajuste do número da prole ao alimento disponível, reduzindo assim, a competição entre imaturos (Zaviezo e Mills, 2000). Pupas maiores e mais pesadas suportam maior progênie por terem maior quantidade de recursos (Fidgen et al., 2000; Liu et al., 2011), mas apresentam maior poder de defesa imunológica, o que pode reduzir a sobrevivência de imaturos dos parasitoides (Strand e Pech, 1995, Pereira et al., 2010b).

O ciclo de vida (ovo- adulto) de *T. diatraeae* foi de $19,11 \pm 0,11$ dias, menor que com pupas de *S. violascens* $25,7 \pm 0,8$ dias (Zaché et al., 2011b) e semelhante àquele com *E. eucerus* ($18,4 \pm 0,98$ dias) (Zaché et al., 2011a). A menor duração do ciclo de vida é desejável para criações massais, desde que não afete o parasitismo e o desenvolvimento dos imaturos. O hospedeiro pode influenciar no tempo de desenvolvimento dos parasitoides, como relatado, para *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) e *Trichogramma pratissolii* Querino & Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (Zago et al., 2006; Zanuncio et al., 2008; Silva et al., 2009). A densidade de fêmea e o tamanho do hospedeiro, também, podem afetar o ciclo de vida de parasitoides (Pereira et al., 2010b), pois cada um suporta um limite de ovos do inimigo natural e valores acima dessa densidade podem causar competição entre imaturos por nutrientes e afetar o ciclo de vida (Caron et al., 2010; Pereira et al., 2010b). O controle do número de posturas por fêmea, principalmente em hospedeiros menores, é importante para o desenvolvimento da progênie (Zaviezo e Mills, 2000).

A razão sexual de *T. diatraeae* foi de $0,94 \pm 0,01$ (proporção de fêmea). Esse parâmetro, também, não diferenciou para *P. elaeisis* e *Melittobia clavicornis* (Cameron, 1908) (Hymenoptera: Eulophidae) avaliados em diferentes hospedeiros (Zanuncio et al., 2008; González et al., 2004), sugerindo que o hospedeiro não afeta a proporção de fêmeas emergidas de Eulophidae podendo ser uma característica dessa família. Maiores valores na razão sexual são desejados e estão relacionados ao incremento do número de fêmeas e a eficiência do controle biológico (Uçkan e Gülel, 2002). Parasitoides gregários, normalmente, tendem a ter maiores proporções de fêmeas e assim podem produzir, apenas, o número necessário de machos para garantir a perpetuação da espécie (Hamilton, 1967).

Pupas de *D. hyalinata* são hospedeiros adequados para o desenvolvimento de *T. diatraeae* podendo ser utilizadas em criações massais desse Hymenoptera. E *T. diatraeae* apresenta potencial para programas de controle biológico dessa praga.

Agradecimentos

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

Referências

- ACHU, M.B.; FOKOU, E.; TCHIÉGANG, C.; FOTSO, M.; TCHOUANGUEP, F.M. Nutritive value of some Cucurbitaceae oilseeds from different regions in Cameroon. **African Journal of Biotechnology**, v.4, p.1329-1334, 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**, v.5, e13231, 2010.
- ARUNA, A.S.; MANJUNATH, D. Reproductive performance of *Nesolynx thymus* (Hymenoptera: Eulophidae) as influenced by host (*Musca domestica*) size. **BioControl**, v.55, p.245-252, 2010.
- AUNG, K.S.D.; TAKAGI, M. UENO, T. Effect of female's age on the progeny production and sex ratio of *Ooencyrtus nezarae*, an egg parasitoid of the bean bug *Riptortus clavatus*. **Journal of the Faculty of Agriculture Kyushu University**, v.55, p.83-85, 2010.
- BAPTISTA, G.C.; TREVIZAN, L. R.P.; FRANCO, A.A.; DA SILVA, R. A. Deltamethrin residues applied in different formulations in staked cucumber and the actions of insecticides on the pickleworm control. **Horticultura Brasileira**, v.26, p.321-324, 2008.
- BAVARESCO, A. Efeito de tratamentos químicos alternativos no controle de *Diaphania* spp. (Lepidoptera: Crambidae) em pepino. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.29, p.309-313, 2007.
- BRODEUR, J.; BOIVIN, G. Functional ecology of immature parasitoids. **Annual Review of Entomology**, v.49, p.27-49, 2004.
- CARON, V.; MYERS, J.H.; GILLESPIE, D.R. The failure to discriminate: superparasitism of *Trichoplusia ni* Hubner by a generalist tachinid parasitoid. **Bulletin of Entomological Research**, v.100, p.255-261, 2010.
- CASTILLO, A.; GÓMEZ, J.; INFANTE, F.; VEGA, F.E. Susceptibilidad del parasitoide *Phymastichus coffea* LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) a *Beauveria bassiana* en condiciones de laboratorio. **Neotropical Entomology**, v.38, p.665-670, 2009.
- CHAISAENG, P.; CHONGRATTANAMETEEKUL, W.; VISARATHANONTH, P.; VAJARASATHIARA, B. Laboratory studies on control of the maize weevil *Sitophilus*

zeamais by the parasitoid *Anisopteromalus calandrae*. **Science Asia**, v.36, p.6-11, 2010.

FIDGEN, J.G.; EVELEIGH, E.S.; QUIRING, D.T. Influence of host size on oviposition behaviour and fitness of *Elachertus cacoeciae* attacking a low-density population of spruce budworm *Choristoneura fumiferana* larvae. **Ecological Entomology**, v.25, 156-164, 2000.

GONRING, A.H.R.; PICANÇO, M.C.; GUEDES, R.N.C.; SILVA, E.M. Natural biological control and key mortality factors of *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Pyralidae) in cucumber. **Biocontrol Science and Technology**, v.13, p.361-366, 2003.

GONZÁLEZ, J.M.; ABE, J.; MATTHEWS, R.W. Offspring production and development in the parasitoid wasp *Melittobia clavicornis* (Cameron) (Hymenoptera: Eulophidae) from Japan. **Entomological Science**, v.7, p.15-19, 2004.

GUILLAUME, R.; BOISSOT, N. Resistance to *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae) in *Cucumis species*. **Journal of Economic Entomology**, v.94, p.719-723, 2001.

HAMILTON, W.D. Extraordinary sex ratios. **Science**, v.156, p.477-480, 1967.

HANSPETERSEN, H.N.; MCSORLEY, R.; LIBURD, O.E. The impact of intercropping squash with non-crop vegetation borders on the above-ground arthropod community. **Florida Entomologist**, v.93, p.590-608, 2010.

IMANDEH, N.G. Effect of the pupal age of *Calliphora erythrocephala* (Diptera: Calliphoridae) on the reproductive biology of *Melittobia acasta* (Walker) (Hymenoptera: Chalcidoidea: Eulophidae). **Entomological Science**, v.9, p.7-11, 2006.

LI, Y.; LU, J.F.; FENG, C.J.; KE, X.; FU, W.J. Role of venom and ovarian proteins in immune suppression of *Ostrinia furnacalis* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae parasitized by *Macrocentrus cingulum* (Hymenoptera: Braconidae), a polyembryonic parasitoid. **Insect Science**, v.14, p.93-100, 2007.

LIU, Z.; XU, B.; LI, L.; SUN, J. Host-size mediated trade-off in a parasitoid *Sclerodermus harmandi*. **PLoS ONE**, v.6, e23260, 2011.

MALERBO-SOUZA, D.T.; TADEU, A.M.; BETTINI, P.C.; TOLEDO, V.A.A. Importância dos insetos na produção de melancia (*Citrullus lanatus* Thunb.) – Cucurbitaceae. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.21, p.579-583, 1999.

MCSORLEY, R.; WADDILL, V.H. Partitioning yield loss on yellow squash into nematode and insect components. **Journal of Nematology**, v.14, p.110-118, 1982.

MELO, R.L.; PRATISSOLI, D.; POLANCZYK, R.A.; MELO, D.F.; BARROS, R.; MILANEZ, A.M. Biologia e exigências térmicas de *Trichogramma atopovirilia*

Oatman & Plainer (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Diaphania hyalinata* L. (Lepidoptera: Pyralidae). **Neotropical Entomology**, v.36, p.431-435, 2007.

MELO, R.L.; PRATISOLI, D.; POLANCZYK, R.A.; TAVARES, M.; MILANEZ, A.M.; MELO, D.F. Ocorrência de *Trichospilus diatraeae* (Hym.: Eulophidae) em broca-das-cucurbitáceas, no Brasil. **Horticultura Brasileira**, v.29, p.228-230, 2011.

MOURA, V.H.M.C.; FILHO A.M.F.; FILHO J.U.T.B.; HORA, R.C.; SANTOS, H.S. Eficiência de inseticidas no controle da broca das cucurbitáceas (*Diaphania nitidalis*) na cultura da abóbora. **Horticultura Brasileira**, v.26, p.1147-1151, 2008.

NEPI, M.; PACINI, E. Pollination, pollen viability and pistil receptivity in *Cucurbita pepo*. **Annals of Botany**, v.72, p.527-536, 1993.

PARON, M.R. **Bioecologia de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Maragabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), endoparasitóide de Lepidoptera**. Piracicaba, SP. USP. 1999. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior "Luis de Queiroz, Universidade de São Paulo. Piracicaba. 1999.

PARON, M.R.; BERTI-FILHO, E. Capacidade reprodutiva de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de diferentes hospedeiros (Lepidoptera). **Scientia Agrícola**, v.57, p.355-358, 2000.

PEREIRA, F.F.; ZANUNCIO, J.C.; PASTORI, P.L.; CHICHERA, R.A.; ANDRADE, G.S.; SERRÃO, J.E. Reproductive biology of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) with alternative and natural hosts. **Zoologia**, v.27, p.887-891, 2010a.

PEREIRA, F.F.; ZANUNCIO, J.C.; SERRÃO, J.E.; ZANUNCIO, T.V.; PRATISSOLI, D.; PASTORI, P.L. The density of females of *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.82, p.223-231, 2010b.

POLANCZYK, R.A.; BARBOSA, W.F.; CELESTINO, F.N.; PRATISSOLI D.; HOLTZ, A.M.; MILANEZ, A.M.; COCHETO, J.G.; DA SILVA, A.F. Influência da densidade de ovos de *Diaphania hyalinata* (L.) (Lepidoptera: Crambidae) na capacidade de parasitismo de *Trichogramma exiguum* Pinto & Platner e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Neotropical Entomology**, v.40, p.238-243, 2011.

SCHMID-HEMPEL, P. Evolutionary ecology of insect immune defenses. **Annual Review of Entomology**, v.50, p.529-551, 2005.

SCHREINER, I.H. Damage threshold for *Diaphania indica* Saunders (Lepidoptera,

Pyralidae) on cucumbers in guam. **Tropical Pest Management**, v.37, p.17-20, 1991.

SERRA, B.D.V.; CAMPOS, L.A.O. Polinização entomófila de abobrinha, *Cucurbita moschata* (Cucurbitaceae). **Neotropical Entomology**, v.39, p.153-159, 2010.

SILVA, I.M., SILVA, R.O.; ANDRADE, G.S.; ZANUNCIO, J.C.; PEREIRA, F.P.; PASTORI, P.L. Reproduction of *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) in pupae of *Zophobas confusa* Gebien, 1906 (Coleoptera: Tenebrionidae). **Entomotropica**, v.24, p.141-144, 2009.

STRAND, M.R.; PECH, L.L. Immunological basis for compatibility in parasitoid-host relationships. **Annual Review of Entomology**, v.40, p.31-56, 1995.

TRAN, D.H.; UENO, T. Toxicity of insecticides to *Neochrysocharis okazakii*, a parasitoid *Liriomyza* leafminers on vegetables. **Journal of the Faculty of Agriculture Kyushu University**, v.57, p.127-131, 2012.

UÇKAN, F.; GÜLEL, 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* (Hymenoptera: Pteromalidae). **Journal of Applied Entomology**, v.126, p.534-537, 2002.

ZACHÉ, B.; ZACHÉ, R.R.C.; SOLIMAN, E.P.; WILCKEN, C.F. Evaluation of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) as parasitoid of the eucalyptus defoliator *Euselasia eucerus* (Lepidoptera: Riodinidae). **International Journal of Tropical Insect Science**, v.31, p.118-121, 2011a.

ZACHÉ, B.; ZACHÉ, R.R.C.; SOUZAM N.M.; DIAS, T.K.R.D.; WILCKEN, C.F. New record of *Trichospilus diatraeae* Margabandhu & Cherian, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Sarsina violascens* (Herrich-Schaeffer, 1856) (Lepidoptera: Lymantriidae) in Brazil. **Journal of Plant Protection Research**, v.51, p.420-422, 2011b.

ZAGO, H.B.; PRATISSOLI, D.; BARROS, R.; GONDIM JR., M.G.C. Biologia e exigências térmicas de *Trichogramma pratissolii* Querino & Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em hospedeiros alternativos. **Neotropical Entomology**, v.35, p.377-381, 2006.

ZANUNCIO, J. C.; PEREIRA, F. F.; JACQUES, G. C.; TAVARES, M. T.; SERRÃO, J. E. *Tenebrio molitor* Delvare and LaSalle (Coleoptera: Tenebrionidae), a new alternative host to rear the pupae parasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). **Coleopterists Bulletin**, v.62, p.64-66, 2008.

ZAVIEZO, T.; MILLS, N. Factors influencing the evolution of clutch size in a gregarious insect parasitoid. **Journal of Animal Ecology**, v.69, p.1047-1057, 2000.

CAPITULO II

Densidade de parasitismo e idade da pupa de *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae) sobre o inimigo natural *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae)

Densidade de parasitismo e idade da pupa de *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae) sobre o inimigo natural *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae)

Resumo - Parasitoides da família Eulophidae dependem de recurso dos hospedeiros para para seu desenvolvimento. O desenvolvimento de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) está diretamente relacionado a fatores bióticos e abióticos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o desenvolvimento e o parasitismo de *T. diatraeae* com diferentes densidades e idade de pupas de *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae). No primeiro ensaio, diferentes densidades de parasitoides com 72h (1:1, 4:1, 8:1, 12:1, 16:1; 20:1, 24:1) foram expostas por 24h à pupas de *D. hyalinata* com 48h de idade, com 12 repetições, cada uma com uma pupa dessa praga. A densidade do parasitoide não afetou a porcentagem de parasitismo e a emergência desse inimigo natural. A progênie, razão sexual, longevidade e largura da cápsula céfalica de machos e fêmeas apresentaram menores valores com o incremento da densidade de *T. diatraeae*. A duração do ciclo (ovo-adulto) foi proporcional ao aumento da densidade. No segundo ensaio, o efeito da idade de pupa (24, 48, 72, 96, 120 e 144h) na biologia de *T. diatraeae* foi avaliado. Doze pupas de *D. hyalinata*, de cada uma dessas idades, foram expostas por 24h à oito parasitoides com 72 horas. As idades das pupas de *D. hyalinata* não afetaram a porcentagem de emergência, o parasitismo, a razão sexual e a longevidade (machos e fêmeas) de *T. diatraeae*. A descendência, largura da cápsula cefálica e o ciclo de vida de *T. diatraeae* foram prejudicados com o aumento da idade das pupas de *D. hyalinata*. Densidades de, até oito parasitoides por pupa são favoráveis para criação massal desse parasitoide e *T. diatraeae* não discriminou pupas mais velhas de *D. hyalinata*.

Termos para indexação: Eulophidae, *Diaphania hyalinata*, Parasitismo, Controle biológico.

Abstract - Parasitoids of the family Eulophidae depend on resources of their hosts for larva development. Development of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) is related to biotic and abiotic factors. The objective of this study was to evaluate development and parasitism of *T. diatraeae* with different densities and age of *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae) pupae. The first experiment had different densities of 72h old parasitoids (1:1, 4:1, 8:1, 12:1, 16:1, 20:1, 24:1) exposed

for 24 hours to 48h old *D. hyalinata* pupae with 12 replications each with one host pupae. Density of the parasitoid did not affect percentage of parasitism and emergence of this natural enemy. Progeny, sex ratio, longevity and width of head capsules of males and females had lower values with increasing density of *T. diatraeae*. Life cycle duration (egg-adult) was proportional to density increase of this parasitoid. In the second experiment, the effect of pupae age (24, 48, 72, 96, 120 and 144h) on the biology of *T. diatraeae* was evaluated. Twelve pupae of *D. hyalinata* per ages were exposed for 24h to eight 72 hours old parasitoid. Age of *D. hyalinata* pupae did not affect percentage of emergence, parasitism, sex ratio and longevity (males and females) of *T. diatraeae*. Head capsules and life cycle of *T. diatraeae* were affected by increasing age of *D. hyalinata* pupae. Density, up to eight parasitoids per pupa, favore mass rearing of this parasitoid and *T. diatraeae* did not discriminate older pupae of *D. hyalinata*.

Index terms: Eulophidae, *Diaphania hyalinata*, Parasitism, biological control.

Introdução

Insetos como *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae), *Agrotis ipsilon* (Hufnagel, 1767) (Lepidoptera: Noctuidae), *Diaphania* spp. (Lepidoptera: Crambidae) e *Anastrepha grandis* (Macquart, 1846) (Diptera: Tephritidae) podem causar danos às diversas partes de plantas da família Cucurbitaceae desde a germinação à colheita, o que diminui a produção pelos danos diretos e indiretos (Dhillon et al., 2005; HansPetersen et al., 2010).

Diaphania hyalinata (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Crambidae) é praga chave das Cucurbitaceae e ataca, preferencialmente, folhas e hastes (McSorley e Waddill, 1982; Guillaume e Boissot, 2001) reduzindo a área fotossintética de plantas dessa família. Redução de 32,4% no peso de frutos foi relatada na produção de *Cucurbita pepo*, por danos as folhas causadas por imaturos de *D. hyalinata* (McSorley e Waddill, 1982).

Brocas das cucurbitáceas são controladas, basicamente, com inseticidas químicos afetando também os inimigos naturais (Giolo et al., 2005; Ahmad et al., 2011). O controle biológico com parasitoides e predadores é uma alternativa menos agressiva ao ambiente e pode ser usado no controle de praga (Gonring et al, 2003; Pratisoli et al., 2010; Melo et al., 2011).

Dentre os agentes biológicos, parasitoides da família Eulophidae podem ser utilizados no controle de pragas das ordens Lepidoptera, Diptera e Coleoptera (Foelkel et al., 2008; Barbosa et al., 2010; Duan et al., 2011). *Trichospilus diatraeae* (Cherian & Margabandhu, 1942) (Hymenoptera: Eulophidae) parasita, principalmente, Lepidoptera, e vem sendo estudado para o controle biológico de pragas de cana-de-açúcar, milho e algodão na África, Ásia e Américas (Bouček, 1976).

O primeiro registro de *T. diatraeae* foi em 1942 em *Diatraea venosata* (Walker) (Lepidoptera: Crambidae) (Cherian e Margabandhu, 1942) e, a seguir, em pupas da família Noctuidae (Bennett et al., 1987), Pyralidae (Boucek, 1976, Bennett et al., 1987), Nymphalidae (Boucek, 1976), Geometridae (Bennett et al., 1987), Pieridae (Torres-Bauza, 1994) e Arctiidae (Paron e Berti-Filho, 2000). No Brasil, em condições de campo, *T. diatraeae* foi encontrado em pupas de *Thyrinteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae) (Pereira et al., 2008), *Melanolophia consimilaria* Walker, 1860 (Lepidoptera: Geometridae) (Zaché et al., 2010) e *D. hyalinata* (Melo et al., 2011).

O uso de parasitoides em programas de controle biológico depende se o hospedeiro apresenta características adequadas para o desenvolvimento dos seus imaturos (Husni e Honda, 2001; González et al., 2004; Abe, 2009). *Trichospilus diatraeae* parasita pupas de *D. hyalinata* em condições naturais, mostrando a importância de estudos para programas de controle biológico dessa praga (Melo et al., 2011). Parasitoides como *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (Pratissoli et al., 2010) e espécies da família Tachinidae foram, também, relatados no controle de ovos e larvas de *D. hyalinata* (Gonring et al., 2003).

Estudos como capacidade de parasitismo, desenvolvimento e comportamento sobre o hospedeiro devem ser desenvolvidos para se maximizar a eficiência do controle biológico de pragas (Melo et al., 2011). Trabalhos com Hymenoptera buscam a melhor densidade de parasitoide e idade de hospedeiro para o desenvolvimento de inimigos naturais (Husni e Honda, 2001; Imandeh, 2006; Chong e Oetting, 2006; Hansan et al., 2009; Pereira et al., 2010).

O sucesso reprodutivo, a produção de descendentes (Chong e Oetting, 2006; Ghimire e Phillips, 2010), a razão sexual da progênie (Chaisaeng et al., 2010), a taxa de parasitismo (Pereira et al., 2010), a porcentagem de emergência (Chaisaeng et al., 2010) e o tempo de desenvolvimento dos imaturos (Pereira et al., 2010) dependem da densidade de parasitoides por hospedeiro. O ajuste nessa densidade pode evitar a resposta de defesa por encapsulação do hospedeiro (Andrade et al., 2010) e satisfazer as

condições nutricionais para o desenvolvimento do parasitoide (Pereira et al., 2009). O superparasitismo em altas densidades do parasitoide pode comprometer o desenvolvimento dos imaturos devido à competição por alimento (Dorn e Beckage, 2007; Caron et al., 2010; Pereira et al., 2010).

A idade do hospedeiro pode, também, afetar o parasitismo e a emergência da progênie (Husni e Honda, 2001; Wang e Liu, 2002; Abe, 2009). Parasitoides dependem do hospedeiro como único recurso para o desenvolvimento de sua prole e a qualidade nutricional dos mesmos podem afetar parâmetros biológicos da progênie (Husni e Honda, 2001; Amalin et al., 2005; Imandeh, 2006; Caron et al., 2010).

O conhecimento do efeito da densidade e idade da pupa de *D. hyalinata* no parasitismo e desenvolvimento de *T. diatraeae* poderá fornecer dados comportamentais importantes para a eficiência do controle biológico.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o parasitismo e desenvolvimento de *T. diatraeae* com diferentes densidades do parasitoide e idade de pupas de *D. hyalinata*.

Material e Métodos

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Controle Biológico de Insetos do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO) da Universidade Federal de Viçosa (UFV) em Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Criação de *Diaphania hyalinata*: Lagartas foram mantidas em potes plásticos (3.000 ml) com tampa furada, vedada com organza e alimentadas, diariamente, com folhas de chuchu (*Sechium edule*) da eclosão até a fase de pré-pupa em sala climatizada $25 \pm 2,2^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 10,8\%$. As pré-pupas foram transferidas para embalagens plásticas (3.000mL) forradas com papel toalha até a pupação e transferidas para gaiolas de madeira (33 x 33 x 33 cm) com as laterais teladas e fechadas para emergência dos adultos. Esses adultos foram alimentados com solução nutritiva embebida em algodão colocado no fundo da gaiola sobre uma placa de Petri (Greene et al., 1976). Folhas de abóbora foram colocadas no interior das gaiolas para realização de posturas que foram coletadas e colocadas nos potes plásticos para continuidade da criação (Pratissoli et al., 2008).

Criação de *Trichospilus diatraeae*: Adultos de *T. diatraeae* foram mantidos em tubos de vidro (14 x 2,2cm) tampados com algodão com gotículas de mel como

alimento. Pupas do hospedeiro alternativo, *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae), foram retiradas da criação estoque do LCB/DBA/UFV e expostas ao parasitismo por fêmeas de *T. diatraeae* na proporção 1:10 (pupa/parasitoide) por 24 horas à temperatura de $25 \pm 2,2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10,8\%$ e fotofase de 12 horas (Pereira et al., 2010). Pupas de *A. gemmatalis* foram oferecidas para manutenção da criação do parasitoide em laboratório após a emergência dos descendentes.

Efeito da densidade de *T. diatraeae*

Doze pupas de *D. hyalinata* (peso entre 100 a 120 mg) com 48 horas de idade foram expostas, cada uma, à fêmeas de *T. diatraeae* com 72 horas de idade nas densidades de 1, 4, 8, 12, 16, 20 e 24 parasitoides por pupa. Cada pupa foi individualizada em tubo de vidro tampado com algodão. Após 24h, os parasitoides foram descartados e os tubos armazenado em sala à $25 \pm 2,2^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 10,8\%$ de umidade relativa e fotofase de 12 horas até a emergência dos adultos (Pereira et al., 2010).

Efeito da idade do hospedeiro *D. hyalinata*

Doze pupas de *D. hyalinata* (peso entre 100 a 120 mg) com 0, 24, 48, 96, 120 e 144 horas de idade foram expostas, cada uma, por 24 horas a oito fêmeas de *T. diatraeae* com 72 horas. As pupas foram individualizadas em tubos de vidro (14,0 x 2,2 cm) tampados com algodão em sala climatizada à $25 \pm 2,2^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 10,8\%$ de umidade relativa e fotofase de 12 horas até a emergência dos adultos do parasitoide ou do lepidóptero (Pereira et al., 2009).

Parâmetros avaliados

A duração do ciclo de vida (ovo-adulto); a porcentagem de parasitismo; a porcentagem de emergência; o número de parasitoides emergidos; a razão sexual (RS= número de fêmeas/número de adultos), a largura da cápsula cefálica e a longevidade de machos e de fêmeas de *T. diatraeae* foram avaliada (Pereira et al., 2010). O sexo foi determinado pelas características morfológicas da antena e abdome desses parasitoides (Paron, 1999) e o tamanho da cápsula cefálica e do corpo medidos com ocular micrométrica acoplada a microscópio estereoscópio.

Análises estatísticas

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com 12 pupas de *D. hyalinata* por tratamento (densidade do parasitoide e idade do hospedeiro). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) em nível de 5% de significância e quando significativos à análise de regressão. A porcentagem de

parasitismo e a emergência de *T. diatraeae* de pupas de *D. hyalinata* foram submetidos a análise de variância não-paramétrica e analisados pelo teste de Kruskal-Wallis.

Resultados

Efeito da densidade de *Trichospilus diatraeae*

A porcentagem de parasitismo e a emergência de *T. diatraeae* em pupas de *D. hyalinata* não variaram com a densidade de fêmeas desse parasitoide, com 100% de pupas parasitadas. A emergência foi de 66,67% nas densidades 16:1 e 24:1; 75% na de 20:1; de 83,33% nas de 1:1 e 4:1 e de 92,67% nas de 8:1 e 12:1 (Figura 1).

A progênie de *T. diatraeae* por pupa de *D. hyalinata* foi em média de 83,89 a 202,18 descendentes por pupa, sendo afetada pela densidade do parasitoide ($F= 24,2022$; $P= 0,0058$; $R^2= 0,9237$). O número de descendentes aumentou com a densidade de, até, oito parasitoides por pupa, e tendência de redução a partir deste valor (Figura 2).

A duração do ciclo (ovo-adulto) de *T. diatraeae* em pupas de *D. hyalinata* aumentou com a densidade do parasitoide ($F= 8,20252$; $P= 0,0352$; $R^2= 0,6213$), de 17,10 a 19,33 dias (Figura 3). O número de fêmeas de *T. diatraeae* foi, inversamente, proporcional ao aumento da densidade ($F= 14,1534$; $P= 0,0131$; $R^2= 0,7390$), de 0,90 a 0,98 para as densidades de 24:1 e 1:1 respectivamente (Figura 4).

A longevidade de fêmeas ($F= 40,1052$; $P= 0,0014$; $R^2= 0,8891$) e de machos ($F= 54,4475$; $P= 0,0007$; $R^2= 0,9152$) de *T. diatraeae* diferiram entre tratamentos. A longevidade de fêmeas e machos de *T. diatraeae* variou em média de 4,9 a 13,4 e 5,4 a 13,93 dias, respectivamente (Figura 5).

A largura da cápsula cefálica de fêmeas e machos diferiu entre tratamentos. A largura da cápsula cefálica de fêmeas ($F= 42,0775$; $P= 0,0013$; $R^2= 0,8939$) e de machos ($F= 45,8178$; $P= 0,0011$; $R^2= 0,9016$) de *T. diatraeae* diminuiu com o aumento da densidade desse parasitoide, variado de 0,29 a 0,44 para machos e 0,36 a 0,48 para fêmeas (Figura 6).

Efeito da idade do hospedeiro

A idade da pupa de *D. hyalinata* não afetou o parasitismo e a emergência de *T. diatraeae* (Figura 7).

A progênie de *T. diatraeae* foi maior com pupas jovens de *D. hyalinata* (dias de idade) ($F=138,036$; $P= 0,0003$; $R^2= 0,9718$), com média de 257,46 descendentes com pupas com 24h e 186,36 com aquelas com 144h (Figura 8).

O ciclo de vida de *T. diatraeae* (ovo-adulto) foi menor com o aumento da idade do hospedeiro ($F=49,9171$; $P= 0,0197$; $R^2=0,9520$), variando em média de 17,1 a 18,55 dias (Figura 9).

A razão sexual dos adultos emergidos de pupas de *D. hyalinata* foram semelhantes com pupas de diferentes idades de *D. hyalinata*, com média de 0,91 a 0,94 (proporção de fêmeas) (Tabela 1).

A largura da cápsula cefálica de fêmeas ($F=49,9171$; $P= 0,0197$; $R^2=0,8241$) e macho ($F= 13,9139$; $P= 0,0203$; $R^2= 0,7767$) diminuiu com o aumento da idade de pupa de *D. hyalinata* (Figura 10), mas longevidade de fêmeas e machos desse parasitoide foi semelhante com o aumento da idade do hospedeiro (Tabela 1).

Discussão

Efeito da densidade de *Trichospilus diatraeae*

O parasitismo de 100% das pupas de *D. hyalinata* em todos os tratamentos difere do relatado para aquelas de *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1785 (Coleoptera: Tenebrionidae) e *Bombyx mori* Linnaeus 1758 (Lepidoptera: Bombycidae) parasitadas por *T. diatraeae* e *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae), respectivamente, na densidade 1:1 (parasitoide/pupa) (Fávero, 2009; Pereira et al., 2010). Hospedeiros podem apresentar mecanismos distintos de defesa contra os parasitoides (Fávero, 2009) ou o maior tamanho de *B. mori* pode exigir maior número de parasitoides para neutralizar o sistema imunológico de sua pupa (Strand, 2008). Fêmeas de parasitoides injetam toxinas durante a oviposição para escapar do sistema de defesa do hospedeiro (Uckan et al., 2004) e, em razão da maior massa das pupas de *B. mori*, a dose da toxina por uma única fêmea pode não ser suficiente para evitar o encapsulamento de seus ovos (Pereira et al., 2010). Por outro lado, apenas, uma fêmea de *T. diatraeae* pode inviabilizar pupas de *D. hyalinata* e produzir descendentes, facilitando sua criação massal em laboratório e controle no campo.

A porcentagem de emergência da prole de *T. diatraeae* foi semelhante entre tratamento (densidade de parasitoide). A porcentagem de emergência esta relacionado à fatores como a combinação de aceitabilidade e sobrevivência da prole (Abe, 2009) e o

aumento da densidade favorece o desenvolvimento de imaturos por diminuir a defesa do hospedeiro (Van Alphen e Visser, 1990). Pupas de *A. gemmatalis* apresentaram redução no número de hemócitos (células de defesa) circulantes na hemolinfa com o aumento da densidade do parasitoide (Andrade et al., 2010). A redução da emergência a partir de doze parasitoides, por pupa, sugere a ocorrência de superparasitismo (Chaisaeng et al., 2010), como verificado em pupas de *B. mori* e larvas de *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera: Curculionidae), parasitadas por *P. elaeisis* e *Anisopteromalus calandrae* Howard, 1881 (Hymenoptera: Pteromalidae) respectivamente em densidades mais elevadas (Chaisaeng et al., 2010; Pereira et al., 2010).

O maior número de descendentes de *T. diatraeae* na densidade de oito parasitoides por pupa de *D. hyalinata* pode ser devido à oviposição de mais de uma fêmea no mesmo hospedeiro em comparação aos tratamentos 1:1 e 4:1 (parasitoide/pupa) sendo o hábito gregário dos parasitoides ajuda a romper o sistema imunológico do hospedeiro (Paron e Berti-Filho, 2000; Andrade et al., 2010). Porém, a queda da progênie com o incremento da densidade do parasitoide pode ser devido à competição por espaço e alimento, indicando o limite da capacidade do hospedeiro como verificado para o ectoparasitoide larval *Habrobracon hebetor* (Say, 1836) (Hymenoptera: Braconidae) (Ghimire e Phillips, 2010). Reduções em sete vezes no parasitismo e nove vezes na progênie foram observadas com os hospedeiros expostos à maior densidade de parasitoides (Chong e Oetting, 2006). A densidade de uma para várias fêmeas do parasitoide *T. diatraeae* aumentou a progênie em pupas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), *A. gemmatalis*, *Heliothis virescens* (Fabricius, 1777) e *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) (Paron e Berti-Filho, 2000).

O maior número de machos emergidos de pupas de *D. hyalinata* em maiores densidades pode ser devido ao parasitismo por várias fêmeas no mesmo hospedeiro como verificado, também, para o *Anagyrus* sp. (Hymenoptera: Encyrtidae) (Chong e Oetting, 2006). Isto mostra que a razão sexual pode variar com a densidade de parasitoides sendo que as fêmeas podem “escolher” o sexo da progênie de acordo com fatores como a disponibilidade e tamanho do hospedeiro, idade da fêmea do parasitoide e presença de competidores (Wylie, 1965; Rosenheim, 1996), com ovos não fertilizados produzindo machos e os fertilizados, fêmeas (Rosenheim, 1996). Sendo que à medida que aumenta a taxa de posturas, mas ovos não fertilizados são colocados (Wylie, 1965).

A maior razão sexual (proporção de fêmea) facilita o manuseio em criações ou liberações massais, pois parasitoides fêmeas devem ser selecionadas.

A duração do ciclo de vida de *T. diatraeae* foi diretamente proporcional a densidade desse parasitoide mostrando que o aumento da concorrência por nutrientes pode prolongar esta fase (Cônsoi e Vinson, 2002, Melo et al., 2009) como visto para os parasitoides *Cotesia glomerata* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Braconidae) (Gu et al., 2003) e *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae) (Melo et al., 2009). O desenvolvimento de *T. diatraeae* foi estudado em condições ambientais controladas, mas fatores como a qualidade do hospedeiro (González et al., 2004) e da fêmea do parasitoide (Silva et al., 2008; Sagarra et al., 2001) e o tempo de exposição (Barbosa et al., 2010) podem afetar seu ciclo de vida.

A longevidade e a largura da cápsula cefálica de machos e fêmeas foram inversamente proporcionais ao aumento da densidade de parasitoide. O tamanho do parasitoide, tanto da fêmea quanto do macho, podem estar relacionada com a aptidão reprodutiva, sendo a competição por alimento na fase de imaturos podem comprometer a fecundidade e a longevidade dos adultos (Antolin et al., 1995; Milonas, 2005). Menores densidades podem explorar melhor os recursos nutricionais do hospedeiro, indicando maior qualidade da prole em comparação á maiores densidades (Chong e Oetting, 2006). O tamanho do hospedeiro também pode influenciar sobre o tamanho final dos adultos emergidos e assim como sua fecundidade (Milonas, 2005).

Efeito da idade do hospedeiro

Normalmente a maior taxa de parasitismo é observada em hospedeiro com desenvolvimento inicial (Pratissoli e Oliveira, 1999; Wang e Liu, 2002). A porcentagem de parasitismo e emergência de *T. diatraeae* com pupas de *D. hyalinata* com diferentes idades (24 a 144h) difere do observado para *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) com maior taxa de parasitismo em hospedeiros mais novos (Pratissoli e Oliveira, 1999, Wang e Liu, 2002). O hospedeiro pode evitar o parasitismo pela encapsulação dos ovos por hemócitos, porém parasitoides podem se defender deste mecanismo com substâncias liberadas pela fêmea durante a oviposição (Strand e Pech, 1995; Li et al., 2007). A idade mais avançada de pupas de *D. hyalinata* não reduziu o taxa de parasitismo e a emergência de *T. diatraeae*, sugerindo baixa capacidade de defesa contra o parasitoide. Resultados semelhantes foram observados para *P. elaeisis* e

T. diatraeae em pupas de *B. mori* com até 96 horas de idade (Pereira et al., 2009), mas pupas em estágio mais avançado (144h) podem, também, ser parasitadas por *T. diatraeae*. *Brachymeria lasus* (Walker, 1841) (Hymenoptera: Chalcididae) também foi incapaz de discriminar pupas por idade, podendo ser um comportamento adaptativo e vantajoso do parasitoide em condição de baixa densidade do hospedeiro (Husni e Honda, 2001).

A queda de progênie dos parasitoides em pupas mais velhas pode se dever a queda na qualidade nutricional das mesmas (Minot e Leonard, 1976; Pereira et al., 2009). Mudanças fisiológicas e morfológicas influenciam a aceitabilidade e adequação do hospedeiro por parasitoides (Wang e Liu, 2002) como relatado para a menor progênie com o aumento da idade de pupas de *Exorista sorbillans* Wiedemann, 1830 (Diptera: Tachinidae) e *B. mori* parasitadas por *Nesolynx thymus* (Girault, 1916) (Hymenoptera: Eulophidae) e *P. elaeisis* respectivamente (Hansan et al., 2009; Pereira et al., 2009).

A menor duração do tempo de desenvolvimento de *T. diatraeae* com o aumento da idade do hospedeiro *D. hyalinata* se deve ao fato do estágio avançado do hospedeiro ter acelerado o ciclo de vida dos imaturos. No entanto, o aumento da idade do hospedeiro não afetou o tempo de desenvolvimento dos parasitoides *B. lasus* e *Melittobia acasta* (Walker, 1839) (Hymenoptera: Eulophidae) (Husni e Honda, 2001; Imandeh, 2006). A reduzida variação neste parâmetro (média de 17,1 a 18,55 dias) indica que a duração do ciclo de vida pode não ser um bom indicador da qualidade da progênie.

A razão sexual de *T. diatraeae* foi semelhante para as diferentes idades de pupa de *D. hyalinata*. Este fato mostra que *T. diatraeae* não alterou a relação de sexo de sua prole em resposta à variação de idades pupais e sugere que a taxa de postura por fêmea do parasitoide foi adequada ao hospedeiro, não ocorrendo o superparasitismo (Husni e Honda, 2001; Chong e Oetting, 2006).

A menor largura da cápsula cefálica de *T. diatraeae* com o incremento da densidade de suas fêmeas indica que pupas mais velhas podem ter menor qualidade nutricional (Pereira et al., 2009), porém a redução da prole em pupas mais velhas reduziu a competição entre imaturos, o que pode ter contribuído para não afetar a longevidade dos parasitoides como observado para *Gronotoma micromorpha* (Perkins, 1910) (Hymenoptera: Eucoilinae) (Abe et al., 2009).

Conclusões

Altas densidades por pupa podem comprometer o desenvolvimento da prole de *T. diatraeae*. A densidade de, até, 8:1 é ideal para o desenvolvimento desse parasitoide em pupas de *D. hyalinata*, quando se obtêm maiores porcentagens de emergência e progênie. A partir desta densidade, estes valores e o de outros parâmetros como a razão sexual, longevidade e tamanho dos parasitoides tendem a serem desfavoráveis para o desenvolvimento de *T. diatraeae*.

Pupas mais velhas de *D. hyalinata* são hospedeiros adequados para manter a longevidade da prole do parasitóide *T. diatraeae* e sugere que esse parasitoide pode utilizar os nutrientes de hospedeiros com diferentes idades.

Agradecimentos

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

Referências

- ABE, Y. The effect of the age of the serpentine leafminer *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) on parasitism by the parasitoid wasp *Gronotoma micromorpha* (Hymenoptera: Figitidae: Eucilinae). **European Journal of Entomology**, v.106, p.595-598, 2009.
- AHMAD, M.; RAFIQ, M.; ARIF, M.I.; SAYYED, A.H. Toxicity of some commonly used insecticides against *Coccinella undecimpunctata* (Coleoptera: Coccinellidae). **Pakistan Journal of Zoology**, v.43, p.1161-1165, 2011.
- AMALIN, D.M.; PEÑA, J.E.; DUNCAN, R.E. Effects of host age, female parasitoid age, and host plant on parasitism of *Ceratogramma etiennei* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Florida Entomologist**, v.88, 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**, v.5, p.13231, 2010.
- ANTOLIN, M.F.; ODE, P.J.; STRAND, M.R. Variable sex ratios and ovicide in a natural breeding parasitic wasp. **Animal Behaviour**, v.49, p.589-600, 1995.
- BARBOSA, L.S.; COURI, M.S.; AGUIAR COELHO, V.M. Desempenho do parasitóide *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae) utilizando como hospedeiro *Cochliomyia macellaria* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae), sob diferentes tempos de exposição. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.54, p.125-129, 2010.
- BENNETT, F.D.; GLENN, H.; YASEEN, M.; BARANOWSKI, R.M. Records of *Trichospilus diatraeae*, an Asian parasite (Hymenoptera: Eulophidae) from the Caribbean and Florida. **Florida Entomologist**, v.70, p.184-186, 1987.
- BOUČEK, Z. The African and Asiatic species of *Trichospilus* and *Cotterellia* (Hymenoptera: Eulophidae). **Bulletin of Entomological Research**, v.65, p.669-681, 1976.
- CARON, V.; MYERS, J.H.; GILLESPIE, D.R. The failure to discriminate: superparasitism of *Trichoplusia ni* Hubner by a generalist tachinid parasitoid. **Bulletin of Entomological Research**, v.100, p. 255-261, 2010.
- CHAISAENG, P.; CHONGRATTANAMETEEKUL, W.; VISARATHANONTH, P.; VAJARASATHIARA, B. Laboratory studies on control of the maize weevil *Sitophilus zeamais* by the parasitoid *Anisopteromalus calandrae*. **Science Asia**, v.36, p.6-11, 2010.

- CHERIAN, M.C.; MARGABANDHU, V. A new species of *Trichospilus* (Hymenoptera: Chalcidoidea) from South India. **Indian Journal of Entomology**, v.4, p.101-102, 1942.
- CHONG, J.H.; OETTING, R.D. Functional response and progeny production of the Madeira mealybug parasitoid, *Anagyrus* sp. nov. nr. *sinope*: The effects of host and parasitoid densities. **Biological Control**, v.39, p.320-328, 2006.
- CÔNSOLI, F.L.; VINSON, S.B. Clutch size, development and wing morph differentiation of *Melittobia digitata*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.102, p.135-143, 2002.
- DHILLON, M.K.; SINGH, R.; NARESH, J.S.; SHARMA, H. C. The melon fruit fly, *Bactrocera cucurbitae*: A review of its biology and management. **Journal of Insect Science**, v.5, article n.40, 2005.
- DORN, S.; BECKAGE, N.E. Superparasitism in gregarious hymenopteran parasitoids: ecological, behavioural and physiological perspectives. **Physiological Entomology**, v.32, p.199-211, 2007.
- DUAN, J.J.; OPPEL, C.B.; ULYSHEN, M.D.; BAUER, L.S.; LELITO, J. Biology and life history of *Tetrastichus planipennis* (Hymenoptera: Eulophidae) a larval endoparasitoid of the emerald ash borer (Coleoptera: Buprestidae). **Florida Entomologist**, v.94, p.933-940, 2011.
- FÁVERO, K. **Biologia e técnicas de criação de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) e *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)**. Dourados, MS, (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) - Universidade Federal da Grande Dourados, 2009. 77 p.
- FOELKEL, E.; REDAELLI, L.R.; JAHNKE, S. M.; LOSEKANN, P.B. Biological aspects of *Cirrospilus neotropicus* Diez & Fidalgo (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoid of *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae). **Neotropical Entomology**, v.37, p.279-87, 2008.
- GHIMIRE, M.N.; PHILLIPS, T.W. Mass rearing of *Habrobracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) on larvae of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae): effects of host density, parasitoid density, and rearing containers. **Journal of Stored Products Research**, v.46, p.214-220, 2010.
- GIOLO, F.P.; GRÜTZMACHER, A.D.; PROCÓPIO, S.O.; MANZONI, C.G.; LIMA, C.A.B.; NÖRNBERG, S.D. Seletividade de formulações de glyphosate a *Trichogramma*

pretiosum (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Planta Daninha**, v.23, p.457-462, 2005.

GONRING, A.H.R.; PICANCO, M.C.; GUEDES, R.N.C.; SILVA, E.M. Natural biological control and key mortality factors of *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Pyralidae) in cucumber. **Biocontrol Science and Technology**, v.13, p.361-366, 2003.

GONZÁLEZ, J.M.; ABE, J.; MATTHEWS, R.W. Offspring production and development in the parasitoid wasp *Melittobia clavicornis* (Cameron) (Hymenoptera: Eulophidae) from Japan. **Entomological Science**, v.7, p.15-19, 2004.

GREENE, G.L.; LEPLA, N.C.; DICKERSON; W.A. Velvetbean caterpillar: A rearing procedure and artificial diet. **Journal of Economic Entomology**, v.69, p.487- 488, 1976.

GU, H.; WANG, Q.; DORN, S. Superparasitism in *Cotesia glomerata*: response of host and consequences for parasitoids. **Ecological Entomology**, v.28, p.422-431, 2003.

GUILLAUME, R.; BOISSOT, N. Resistance to *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae) in *Cucumis* Species. **Journal of Economic Entomology**, v.94, p.719-723, 2001.

HANSAN, M.M.; UDDIN, M.R.; KHLAN, M.A.R.; REZA, A.M.S. 2009. Effects of host density, host age, temperature and gamma irradiation on the mass production of *Nesolynx thymus* (Hymenoptera: Eulophidae), an endoparasitoid of Uzi fly, *Exorista sorbillans* (Diptera: Tachinidae). **Biocontrol Science and Technology**, v.19, p.243-259, 2009.

HANSPETERSEN, H.N.; MCSORLEY, R.; LIBURD, O.E. The impact of intercropping squash with non-crop vegetation borders on the above-ground arthropod community. **Florida Entomologist**, v.93, p.590-608, 2010.

HUSNI, Y.K.; HONDA, H. Effects of host pupal age on host preference and host suitability in *Brachymeria lasus* (Walker) (Hymenoptera: Chalcididae). **Applied Entomology and Zoology**, v.36, p. 97-102, 2001.

IMANDEH, N.G. Effect of the pupal age of *Calliphora erythrocephala* (Diptera: Calliphoridae) on the reproductive biology of *Melittobia acasta* (Walker) (Hymenoptera: Chalcidoidea: Eulophidae). **Entomological Science**, v.9, p.7-11, 2006.

LI, Y.; LU, J.F.; FENG, C.J.; KE, X.; FU, W.J. Role of venom and ovarian proteins in immune suppression of *Ostrinia furnacalis* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae parasitized by *Macrocentrus cingulum* (Hymenoptera: Braconidae), a polyembryonic parasitoid. **Insect Science**, v.14, p.93-100, 2007.

- MCSORLEY, R.; WADDILL, V.H. Partitioning yield loss on yellow squash into nematode and insect components. **Journal of Nematology**, v.14, p.110-118, 1982.
- MELO, R.L.; PRATISOLI, D.; POLANCZYK, R.A.; TAVARES, M.; MILANEZ, A.M.; MELO, D.F. Ocorrência de *Trichospilus diatraeae* (Hym.: Eulophidae) em broca-das cucurbitáceas, no Brasil. **Horticultura Brasileira**, v.29, p.228-230, 2011.
- MELO, R.S.; AGUIAR- COELHO, V.M. Durations of immature stage development period of *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae) under laboratory conditions: implications for forensic entomology. **Parasitology Research**, v.104, p.104-411, 2009.
- MILONAS, P.G. Influence of initial egg density and host size on the development of the gregarious parasitoid *Bracon hebetor* on three different host species. **Biocontrol**, v.50, p.415-428, 2005.
- MINOT, M.C.; LEONARD, D.E. Host preference and development of the parasitoid *Brachymeria intermedia* in *Lymantria dispar*, *Galleria mellonella*, and *Choristoneura fumiferana*. **Environmental Entomology**, v.5, p.527-532, 1976.
- PARON, M.R. **Bioecologia de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Maragabandhu, 1942 (Hymenoptera: Eulophidae), endoparasitóide de Lepidoptera**. Piracicaba, SP. USP. 1999. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior "Luis de Queiroz, Universidade de São Paulo. Piracicaba. 1999.
- PARON, MR.; BERTI-FILHO, E. Capacidade reprodutiva de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de diferentes hospedeiros (Lepidoptera). **Scientia Agricola**, v.57, p.355-358, 2000.
- 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 *Thyrintea arnobia* in Brazil. **Phytoparasitica**, v.36, p.304-306, 2008.
- PEREIRA, F.F.; ZANUNCIO, J.C.; SERRÃO, J.E.; OLIVEIRA, H.N.; FÁVERO, K.; GRANCE, E.L.V. Progenie de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) parasitando pupas de *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) de diferentes idades. **Neotropical Entomology**, v.38, p.660-664, 2009.
- PEREIRA, F.F.; ZANUNCIO, J.C.; SERRÃO, J.E.; ZANUNCIO, T.V.; PRATISSOLI, D.; PASTORI, P.L. The density of females of *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx*

- mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.82, p.323-231, 2010.
- PRATISSOLI, D.; MILANEZ, A.M.; BARBOSA, W.F.; CELESTINO, F.N.; ANDRADE, G.S.; POLANCZYK, R.A. Side effects of fungicides used in Cucurbitaceous crop on *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Chilean Journal of Agricultural Research**, v.70, p.323-327, 2010.
- PRATISSOLI, D.; OLIVEIRA, H. N. Influência da idade dos ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie) no parasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, p.891-896, 1999.
- PRATISSOLI, D.; POLANCZYK, R.A.; HOLTZ, A.M.; TAMANHONI, T.; CELESTINO, F.N.; BORGES FILHO, R.C. Influence of nutritional substrates on the development of *Diaphania hyalinata* L. (Lepidoptera: Crambidae). **Neotropical Entomology**, v.37, p.361-364, 2008.
- ROSENHEIM, J.A. An evolutionary argument for egg limitation. **Evolution**, v.50, p.2089-2094, 1996.
- SAGARRA, L.A.; VINCENT, C.; STEWART, R.K. Body size as an indicator of parasitoid quality in male and female *Anagyrus kamali* (Hymenoptera: Encyrtidae) **Bulletin of Entomological Research**, v.91, p.363-367, 2001.
- SILVA, R.J.; BUENO, V. H. P.; SILVA, D. B. and SAMPAIO, M. V. Tabela de vida de fertilidade de *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae) em *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) e *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera, Aphididae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.52, p.124-130, 2008.
- STRAND, M.R.; PECH L.L. Immunological basis for compatibility in parasitoid host relationships. **Annual Review of Entomology**, v.40, p.31-56, 1995.
- STRAND, M.R. The insect cellular immune response. **Insect Science**, v.15, p.1-14, 2008.
- TORRES-BAUZA, J.A. Hymenopterous parasitoids of *Dismorfia spio* (Pieridae: Dismorphiinae). **Journal of the Lepidopterist's Society**, v.48, p.266, 1994.
- UCKAN, F.; SINAN, S.; SAVASCI, S.; ERGIN, E. Determination of venom components from the endoparasitoid wasp *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v.97, p.775-780, 2004.
- VAN ALPHEN, J.J.M.; VISSER, M.E. Superparasitism as an adaptive strategy for insect parasitoids, **Annual Review of Entomology**, v.35, p.59-79, 1990.

WANG, X.G.; LIU S.S. Effects of host age on the performance of *Diadromus collaris*, a pupal parasitoid of *Plutella xylostella*. **Biological Control**, v.47, p.293-307, 2002.

WYLIE, H.G. Effects of superparasitism on *Nasonia vitripennis* (Walk.) (Hymenoptera: Pteromalidae). **Canadian Entomologist**, v.97, p.326-331, 1965.

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**, v.38, p.355-357, 2010.

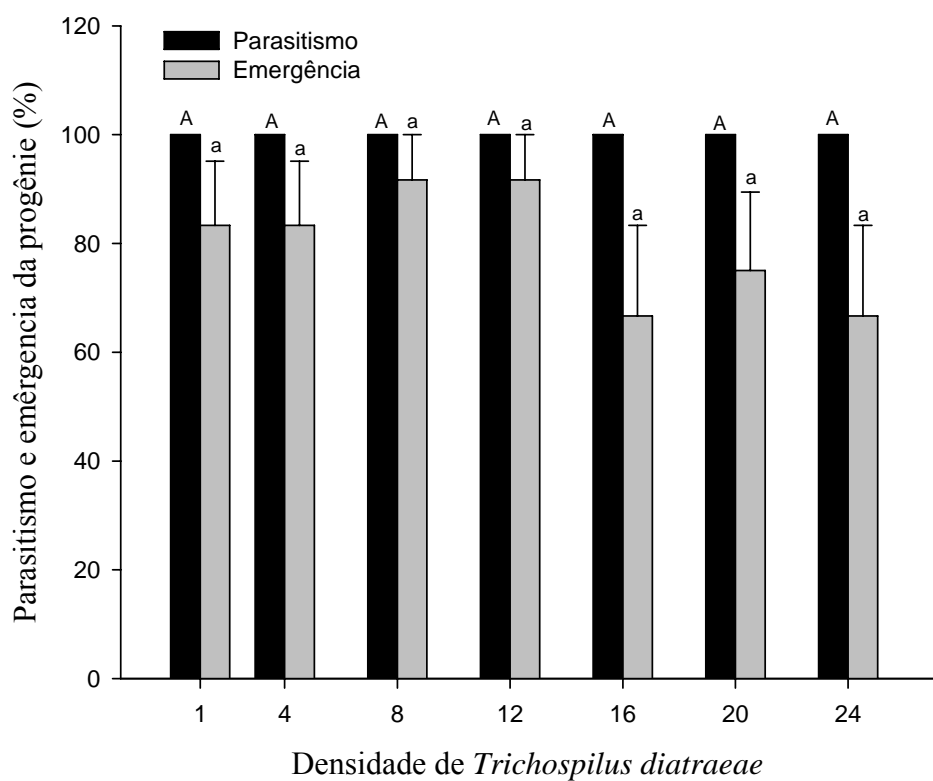


Figura 1. Parasitismo e emergência da progênie de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) com 1, 4, 8, 12, 16, 20 e 24 fêmeas por pupa de *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae). Barras seguidas de mesma letra maiúscula ou minúscula por parâmetro não diferem pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

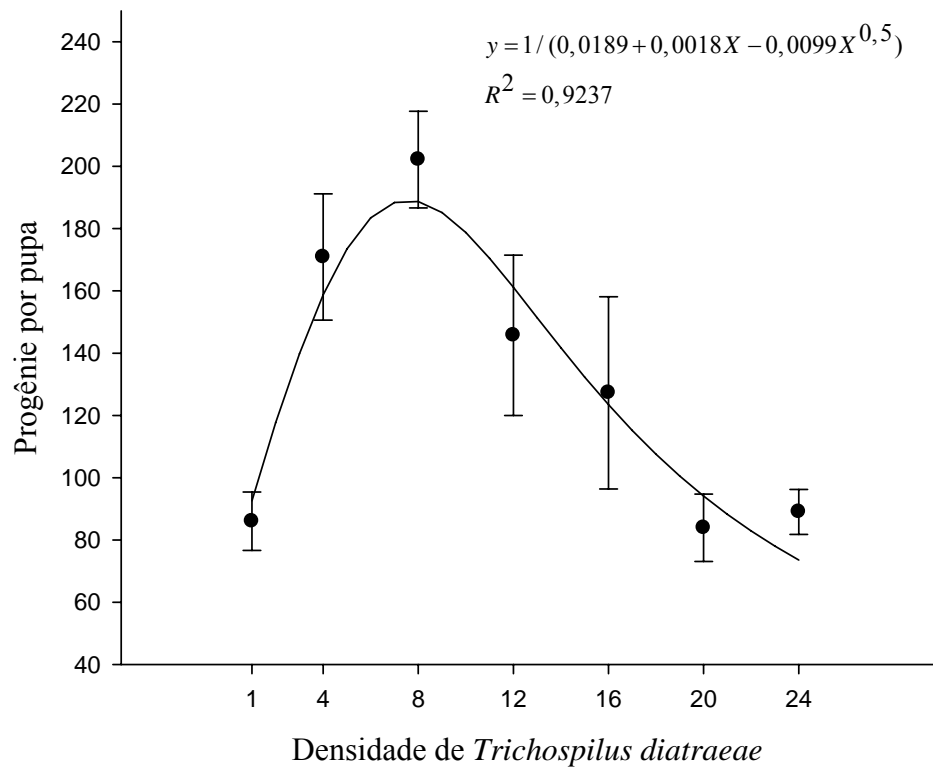


Figura 2. Média (\pm EP) da progênie de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) com 1, 4, 8, 12, 16, 20 e 24 fêmeas por pupa de *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae) ($F = 24,2022$; $P = 0,0058$; $R^2_{\text{Trat}} = 0,9237$).

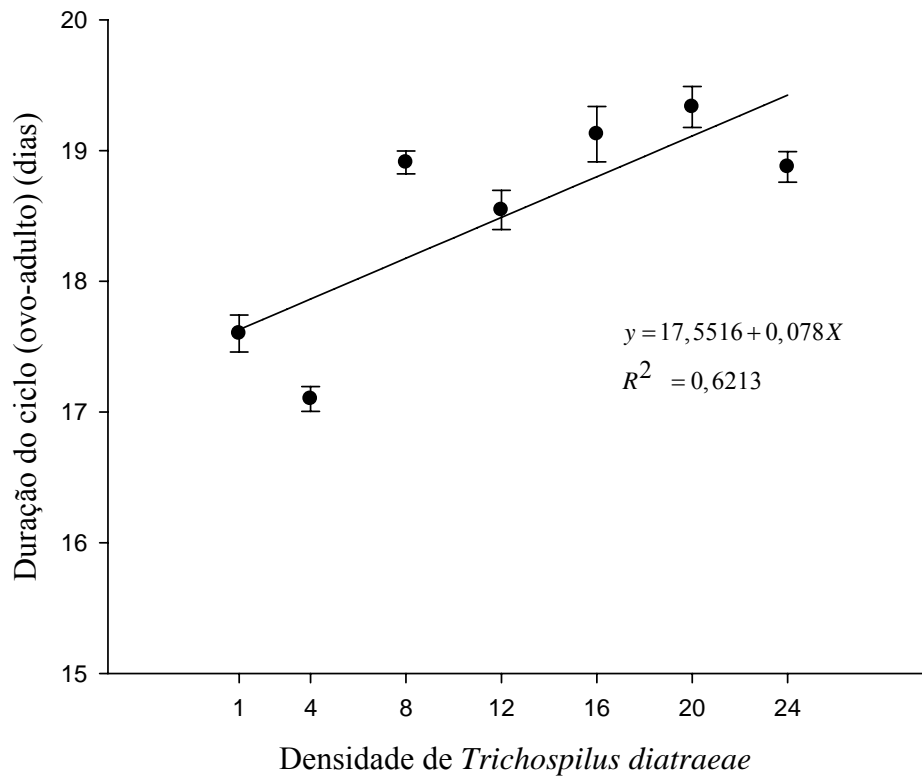


Figura 3. Média (\pm EP) da duração do ciclo (ovo-adulto) de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) com 1, 4, 8, 12, 16, 20 e 24 fêmeas por pupa *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae) ($F= 8,2025$; $P= 0,0352$; $R^2_{\text{Treat}}= 0,6213$).

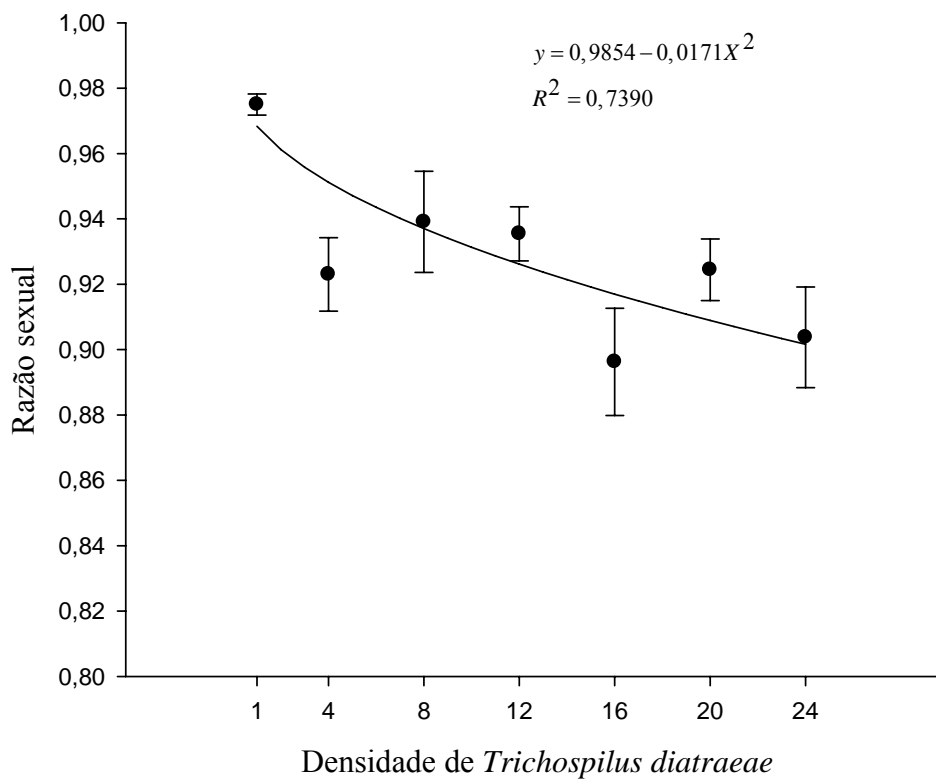


Figura 4. Média (\pm EP) da razão sexual de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) com 1, 4, 8, 12, 16, 20 e 24 fêmeas desse parasitoide por pupa de *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae) ($F= 14,1534$; $P= 0,0131$; $R^2_{\text{Trat}}= 0,7390$).

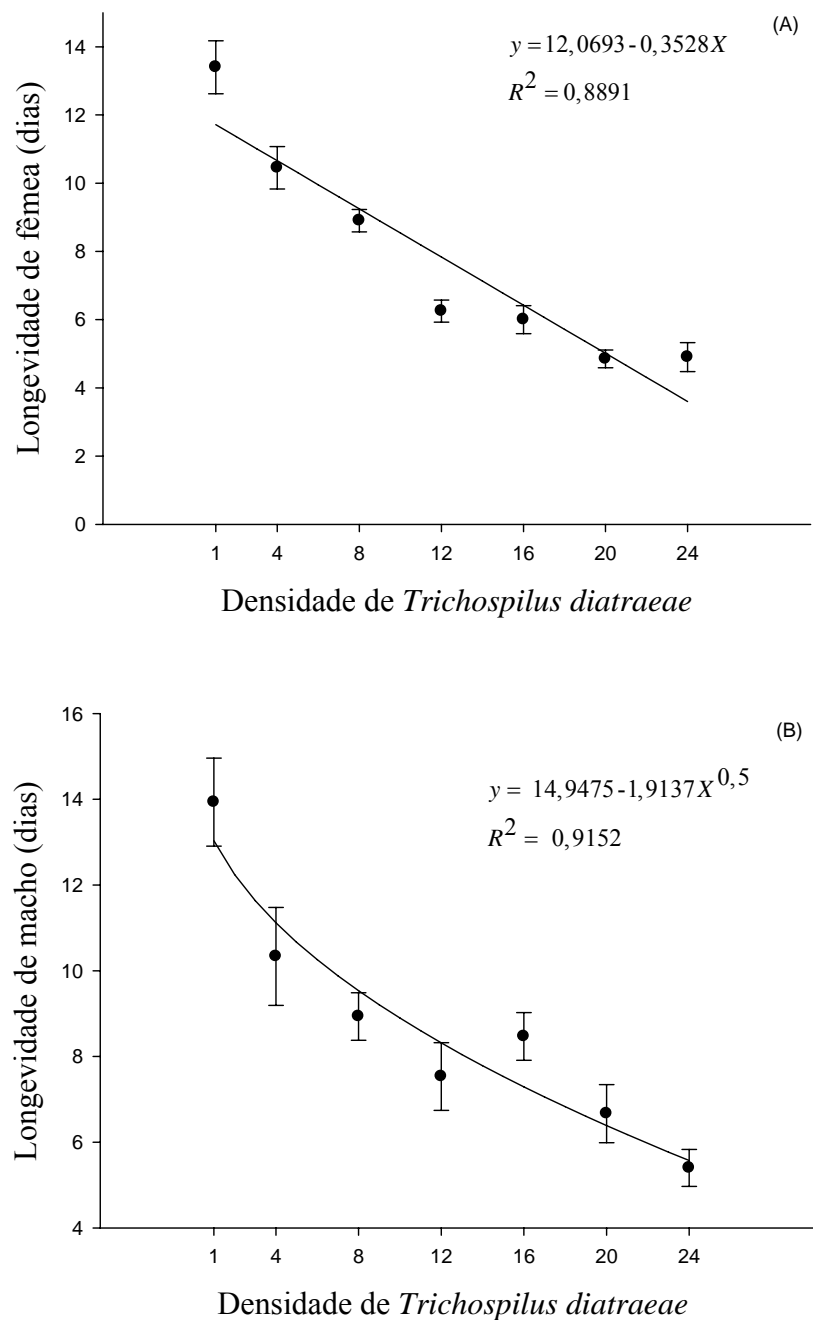


Figura 5. Média (\pm EP) da longevidade de fêmeas (A) e machos (B) de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) com 1, 4, 8, 12, 16, 20 e 24 fêmeas desse parasitoide por pupa de *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae) ($F= 40,1052$; $P= 0,0014$; $R^2_{\text{Trat}} = 0,8891$) (A), ($F= 54,4475$; $P= 0,0007$; $R^2_{\text{Trat}} = 0,9152$) (B).

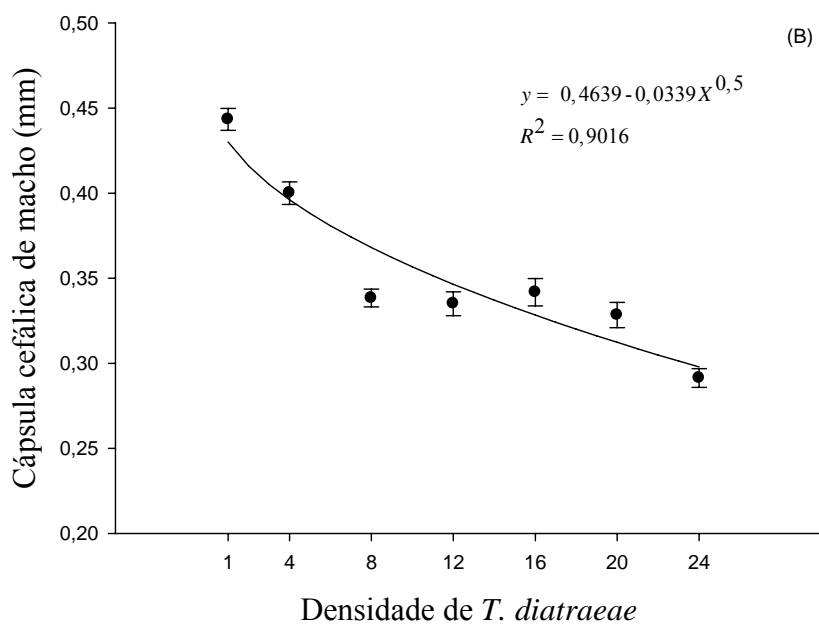
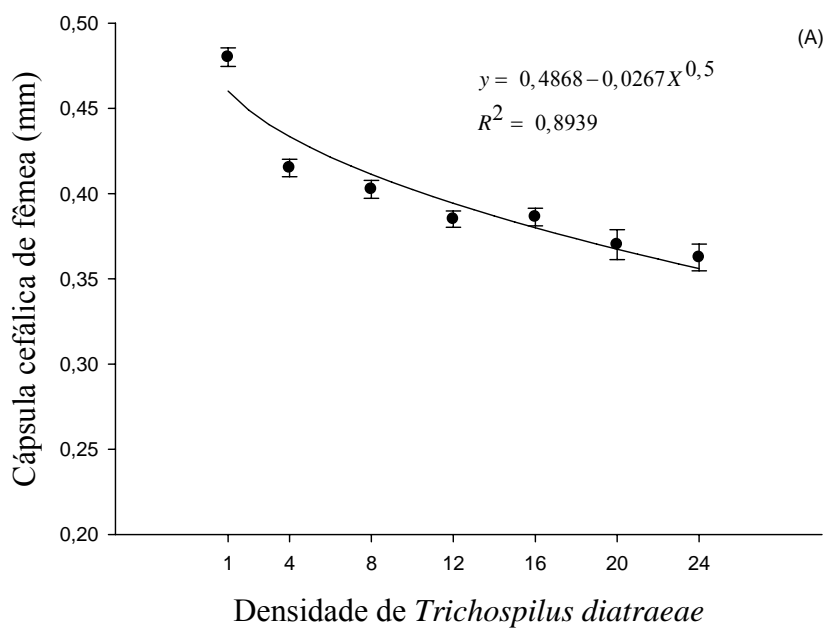


Figura 6. Média (\pm EP) da largura da cápsula cefálica de fêmeas (A) e machos (B) de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) com 1, 4, 8, 12, 16, 20 e 24 fêmeas desse parasitoide por pupa de *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae) ($F=42,0775$; $P=0,0013$; $R^2_{\text{Trat}}=0,8939$) (A), ($F=45,8178$; $P=0,0011$; $R^2_{\text{Trat}}=0,9016$) (B).

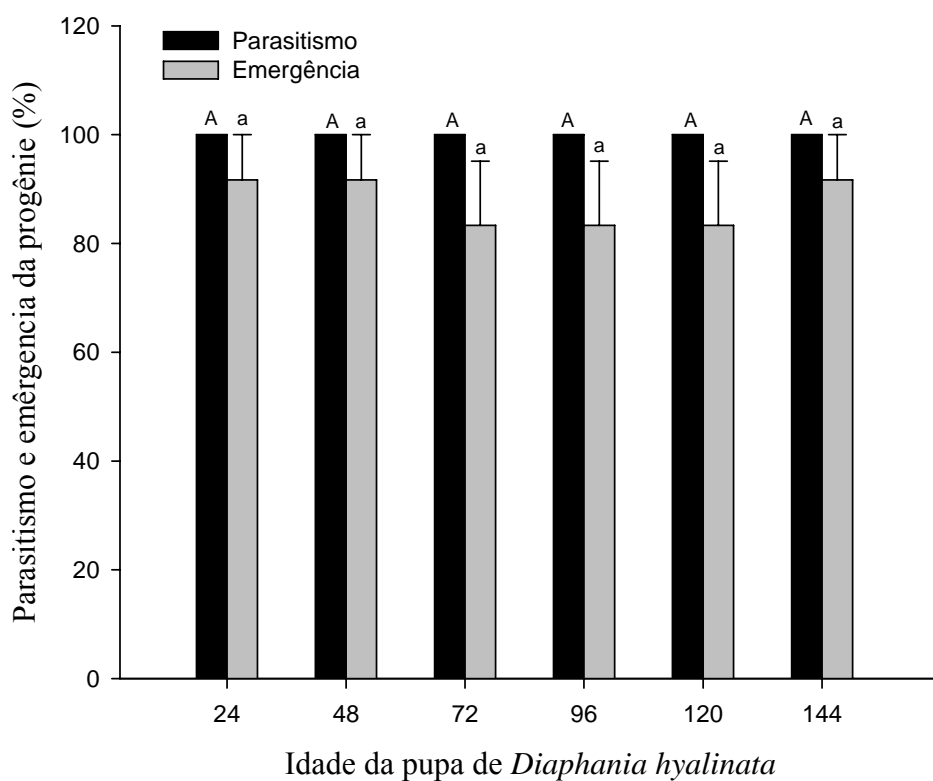


Figura 7. Parasitismo e emergência da progênie de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae) com 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas de idade. Barras seguidas de mesma letra maiúscula ou minúscula por parâmetro não diferem pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

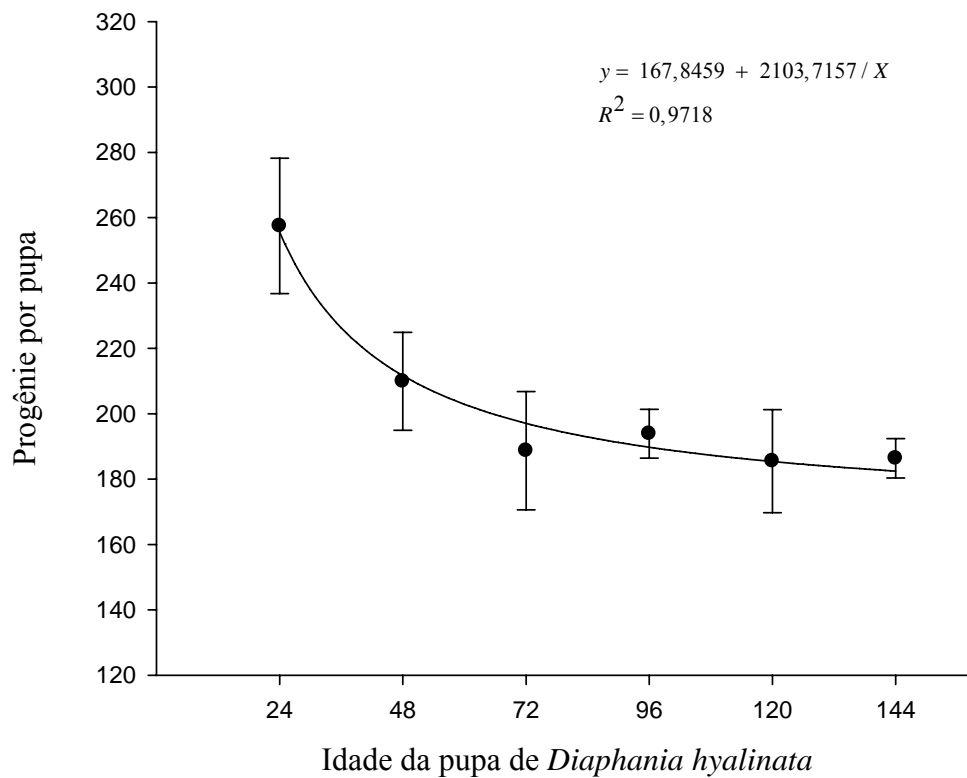


Figura 8. Média (\pm EP) da progênie de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae) com 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas de idade ($F=138,036$; $P= 0,0003$; $R^2_{\text{Trat}}= 0,9718$).

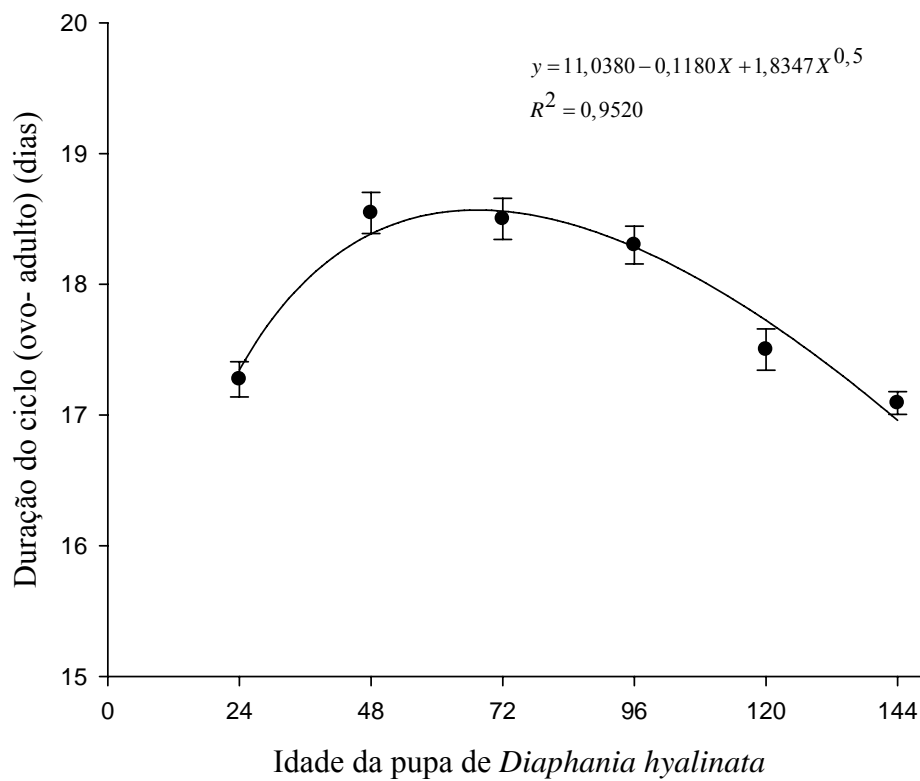


Figura 9. Média (\pm EP) da duração do ciclo de vida (ovo-adulto) em dias de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae) com 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas de idade ($F = 49,9171$; $P = 0,0197$; $R^2_{\text{Trat}} = 0,9520$).

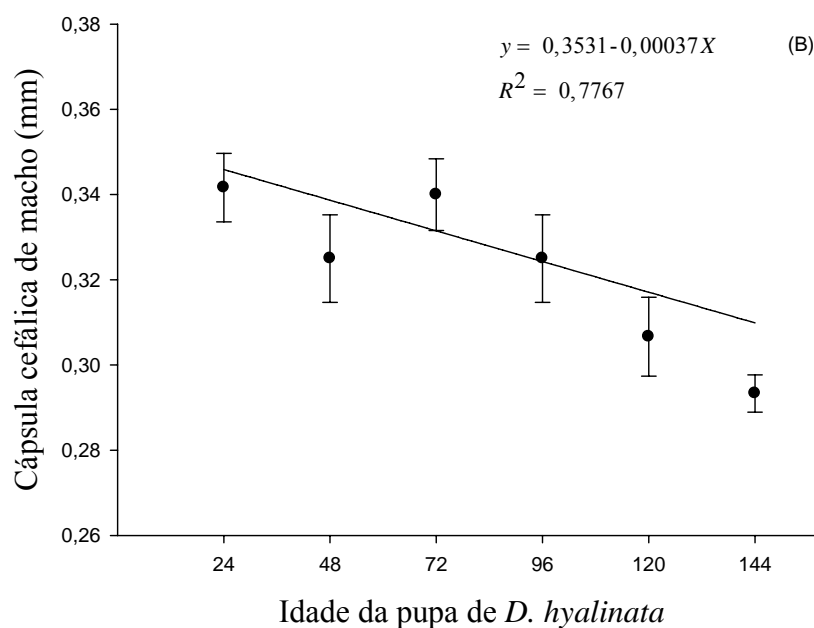
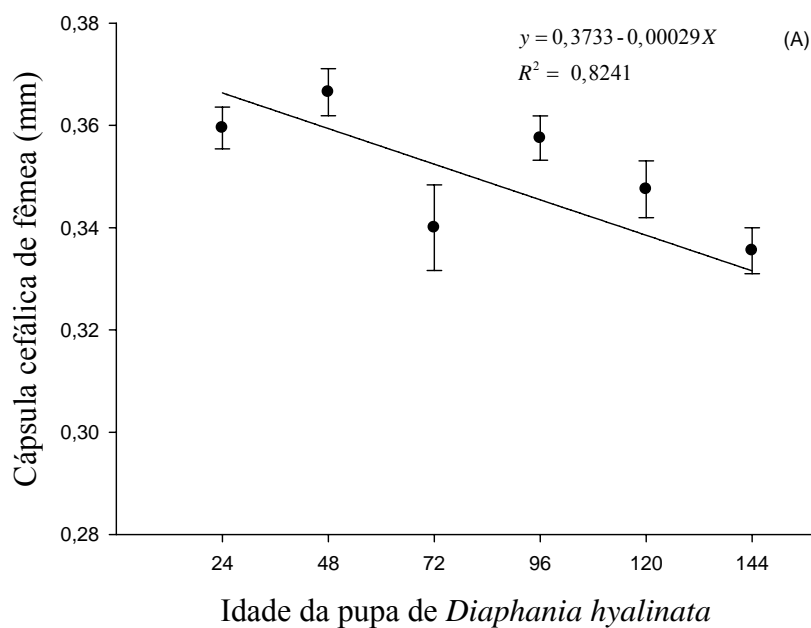


Figura 10. Média (\pm EP) da largura da cápsula cefálica de fêmeas (A) e machos (B) de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae) com 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas de idade ($F = 49,9171$; $P = 0,0197$; $R^2_{\text{Trat}} = 0,8241$) (A) e ($F = 13,914$; $P = 0,02029$; $R^2_{\text{Trat}} = 0,7767$) (B).

Tabela 1. Longevidade de fêmeas (LFêm.) e machos (LMach.) e razão sexual (RS) (média ± erro padrão) de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae) com 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas de idade (Ida.hor.)

Ida.hor.	LFêm. (dias) ^{ns}	LMach. (dias) ^{ns}	RS ^{ns}
24	11,20 ± 0,83	9,73 ± 0,26	0,94 ± 0,01
48	10,30 ± 0,73	10,47 ± 0,5	0,94 ± 0,01
72	10,25 ± 0,64	10,07 ± 0,41	0,92 ± 0,01
96	11,00 ± 0,53	11,67 ± 0,52	0,92 ± 0,01
120	10,65 ± 0,80	10,33 ± 0,70	0,93 ± 0,01
144	10,50 ± 0,61	10,80 ± 0,82	0,94 ± 0,01

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

CAPITULO III

Produtos naturais no controle de *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae)

Produtos naturais no controle de *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae)

Resumo - Óleos essenciais representam uma alternativa para o controle de pragas e a redução de inseticidas químicos sintéticos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade de óleos essenciais (OE) de canela, cravo, laranja e do produto comercial Azamax[®] para ovos, lagartas e pupas da praga das Cucurbitaceae *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae). Diferentes concentrações de cada produto (tratamento) (0,25% a 25%) diluídos em acetona foram aplicadas em cada fase do desenvolvimento de *D. hyalinata*, enquanto o controle teve, apenas, acetona. Discos de papel com 20 ovos de *D. hyalinata* foram pulverizados com cada tratamento, utilizando-se quatro discos por tratamento, cada um representando uma repetição. Na fase imatura, discos de folhas de abóbora foram imersos nos OE e no produto Azamax[®] e oferecidos às lagartas, com quatro repetições de 10 lagartas cada uma. Pupas de *D. hyalinata* foram imersas por cinco segundos em cada tratamento, com quatro repetições de 10 pupas cada uma. As CL₅₀ dos óleos de canela, cravo, laranja e do produto Azamax[®] foram de 1,70; 0,97; 40,08 e 1,18 µL/ml para ovos e de 14,07; 48,92; 90,31 e 6,18 µL/ml para pupas e as CL₉₀ de 6,17; 2,38 648,50 e 15,67 µL/ml para ovos e 269,06; 642,23; 1079,63 e 16,08 µL/ml para pupas respectivamente. Os valores da CL₅₀ foram de 10,82 e 18,75 µL/ml para canela e cravo respectivamente e CL₉₀ para os óleos de cravo (46,21 µL/ml) e canela (37,21 µL/ml) para lagarta de *D. hyalinata*, os quais não foram obtidos para os demais tratamentos devido à baixa mortalidade dos mesmos no tempo estimado. O produto comercial Azamax[®] mostrou potencial para o controle de *D. hyalinata*. O óleo de canela foi mais tóxico para lagartas e pupas e o de cravo para de ovos de *D. hyalinata*.

Termos para indexação: Azamax[®], *Diaphania hyalinata*, Óleos essenciais, Produtos naturais

Abstract - Essential oils represent an alternative for pest control and to reduce use of synthetic chemical insecticides. The objective of this study was to evaluate the toxicity of essential oils (EO) of cinnamon, clove, orange and the commercial product Azamax[®] on eggs, pupae and larvae of the Cucurbitaceae, *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae). Different concentrations of each product (treatment) (0.25% to 25%) dissolved in acetone were applied to each stage of *D. hyalinata* and the control had only, acetone. Paper disks with 20 eggs of *D. hyalinata* were sprayed per treatment with

four disks per treatment, each representing a replication. Pumpkin leaf discs were immersed in the OE and in Azamax[®] and offered to larvae with four replications of 10 larvae each. Pupae of *D. hyalinata* were immersed for five seconds per treatment with four replications with 10 pupae each. The LC₅₀ of the oils of cinnamon, clove, orange and the Azamax[®] product were 1.70, 0.97, 40.08 and 1.18 µL/ml for eggs and 14.07, 48.92, 90.32 and 6.18 µL/ml for pupae and the LC₉₀ of 6.17, 2.38 648,50 and 15.67 µL/ml for eggs and 269.06, 642.23, 1079.63 and 16.08 µL/ml respectively for pupae. The LC₅₀ values were 10.82 and 18.75 µL/ml for cinnamon and cloves respectively, and the LC₉₀ of clove (46.21 µL/ml) and cinnamon (37.21 µL/ml) oils for caterpillar *D. hyalinata*, that of the other treatments were not obtained due to its low mortality. The commercial product Azamax[®] showed potential to control *D. hyalinata*. The cinnamon oil was more toxic to larvae and pupae and clove for eggs of *D. hyalinata*.

Index terms: Azamax[®], *Diaphania hyalinata*, Essential oils, Natural products

Introdução

Diaphania hyalinata (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Crambidae) é praga-chave de espécies de Cucurbitaceae e pode causar perda total na produção por danificar folhas, hastes e frutos de plantas dessa família (Gonring et al., 2003; Hanspetersen et al., 2010). Produtores convencionais dispõem de grande gama de produtos químicos para o controle de pragas e doenças, mas na produção agroecológica dispõem de poucas opções, tornando o uso de inseticidas botânicos um recurso para o controle de pragas (Coitinho et al., 2011; Leite et al., 2011).

Inseticidas naturais foram utilizados para o controle de pragas desde a década de 40, quando os químicos sintéticos ganharam mais espaço (Viegas Jr., 2003). Porém com os problemas advindos do uso de agrotóxicos os produtos naturais vêm se destacando na indústria de defensivos como uma alternativa para os produtores rurais reduzirem os prejuízos na produção e riscos à saúde de trabalhadores (Isman, 2006; Chaieb et al., 2007).

Óleos essenciais são compostos voláteis derivados do metabolismo secundário de plantas e, em geral, apresentam grande espectro de ação, controlando insetos-pragas, mastigadores (lagartas, formigas e imaturos de Coleoptera), sugadores (ácaros, pulgões, percevejos) e minadores (imaturos de moscas e Lepidoptera) (Kainulainen et al. 2002;

Isman, 2000; 2006; Prajapati et al., 2005; Assis et al., 2011; Baniadami et al., 2011; Verza et al., 2011).

Pesquisas com inseticidas botânicos e óleos essenciais visam a obtenção de inseticidas naturais para o controle de pragas e/ou de moléculas para a produção de produtos sintéticos (Hedin, 1982; Isman, 2000; Park et al., 2002). Plantas produzem substâncias com ação inseticida, fagonibitoria e reguladora do crescimento de insetos (Viegas Jr. 2003; Isman, 2006; Tarelli et al., 2009).

Plantas como a caneleira, craveiro, laranjeira e o nim produzem óleos essenciais com atividade inseticidas, mas toxicidade variável com a espécie praga (Bruce et al., 2004; Birah et al., 2010; Zewde e Jembere, 2010; Paranagama e Gunasekera, 2011). Alguns destes óleos, como o Azamax[®] de plantas de nim, são comercializados para o controle de insetos.

O nim, *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae) possui o maior número de estudos sobre metabólitos para uso como inseticidas botânicos. Originária do Sul e sudeste da Ásia, essa planta apresenta crescimento rápido atingindo até 25 m, em áreas de clima tropical e subtropical (Schmutterer, 1990). Sua ação sobre insetos deve-se à presença da azadiractina, um triterpeno encontrado, principalmente, em seus frutos (Isman, 2006). A azadiractina possui boa eficácia contra pragas agrícolas (Viegas Jr., 2003, Seljasen e Meadow, 2006; Roel et al., 2010) com atividade de repelência, antioviposição, esterilidade, anormalidades anatômicas e interrupção no crescimento de espécies de Coleoptera, Diptera, Hemiptera e Lepidoptera (Koul, 2004; Venzon et al., 2007; Andrade-Coelho et al., 2009; Roel et al., 2010).

O cravo, *Syzygium aromaticum*, originária da Índia, família Myrtaceae, é cultivada no Brasil, principalmente, nos estados de São Paulo e Bahia para fins culinários devido ao aroma e sabor, conferido pelo eugenol (Costa et al., 2005). O eugenol ou extratos de *S. aromaticum* apresentam atividade inseticida contra pragas de grãos armazenados (Huang et al., 2002); *Trichoplusia ni* (Hübner, 1803) (Lepidoptera: Noctuidae) (Jiang et al., 2012); *Spodoptera litura* (Fabricius, 1775) (Lepidoptera: Noctuidae) (Birah et al., 2010); *Callosobruchus chinensis* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Bruchidae) (Zia et al., 2011); *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus, 1758) (Hemiptera: Aphididae) (Baniadami et al., 2011) e larvas de *Culex pipiens* Linnaeus, 1758 e *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) (El-Hag et al., 1999; Costa et al., 2005).

A caneleira (*Cinnamomum zeylanicum*), árvore tropical, da família Lauraceae, é originária de regiões do Sri Lanka e Ásia Tropical (Jayaprakasha et al., 2000). *Cinnamomum zeylanicum* possui mais de 80 compostos em suas folhas, flores e cascas de frutas e raízes, sendo o engenol a principal substância com poder inseticida extraída de suas folhas (Jayaprakasha e Rao, 2011). Óleos essenciais de *C. zeylanicum* causam repelência, mortalidade e redução na oviposição de *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885 (Coleoptera: Curculionidae) e *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Bruchidae) (Coitinho et al., 2011; Paranagama e Gunasekera, 2011) e mortalidade em *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank, 1781) e *Suidasia pontifica* Oudemans, 1905 (Acari: Astigmata) (Assis et al., 2011).

O óleo de laranjeira (*Citrus sinensis*), família Rutaceae, inibiu a oviposição e causou a morte dos adultos de pragas de grãos armazenados (Zewde e Jembere, 2010), além de inibir o desenvolvimento da mosca-branca (Ribeiro et al., 2010) e de cochonilhas (Hollingsworth, 2005). Seu princípio inseticida está relacionado ao limoneno, naturalmente encontrado em plantas cítricas (Ibrahim et al., 2001). Essa substância pode ser tóxica através da penetração na cutícula do inseto (contato), no sistema respiratório (efeito fumigante) e pelo aparelho digestivo (efeito ingestão) (Prates et al., 1998).

A avaliação de óleos vegetais é importante para a descoberta de moléculas visando à formulação de inseticidas para se minimizar o uso de inseticidas sintéticos e os impactos ambientais (Moreira et al., 2007).

Este trabalho tem como objetivo avaliar a toxicidade do produto comercial base de nim (Azamax[®]) em *D. hyalinata* e selecionar, entre os óleos essenciais de *S. aromaticum* (cravo), *C. zeylanicum* (canela) e *C. sinensis* (laranja), o mais eficiente contra *D. hyalinata*.

Material e Métodos

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Controle Biológico de Insetos do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO) da Universidade Federal de Viçosa (UFV) em Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Criação de *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae): Lagartas foram mantidas em potes plásticos (3.000 mL) com a tampa furada, vedada com organza e alimentadas diariamente com folhas de chuchu (*Sechium edule*) da eclosão até a fase de

pré-pupa em sala climatizada a $25 \pm 2,2^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 10,8\%$ de umidade relativa e fotofase de 12 horas. As pré-pupa foram transferidas para embalagens plásticas (3.000mL) forradas com papel toalha até a pupação e colocadas em gaiolas de madeira (33 x 33 x 33 cm) com as laterais teladas e fechadas para emergência dos adultos, os quais foram alimentados com solução nutritiva embebida em algodão no fundo da gaiola sobre uma placa de Petri (Greene et al., 1976). Folhas de abóbora foram colocadas no interior das gaiolas para realização de posturas, que foram coletadas e colocadas em potes plásticos para continuidade da criação (Pratissoli et al., 2008).

Obtenção dos óleos

Os óleos essenciais de canela (*C. zeylanicum*), cravo (*S. aromaticum*) e laranja (*C. sinensis*) foram adquiridos da empresa Viessence Comércio de Produtos Naturais Ltda (Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil) extraídos pelo fornecedor em escala industrial por hidrodestilação. O óleo a base de nim utilizado foi o produto comercial Azamax[®] e as soluções preparadas conforme metodologia descrita (Souza et al. 2007).

Avaliação de extratos botânicos sobre ovos, larvas e pupas de *Diaphania hyalinata*

Posturas

A faixa de resposta da mortalidade foi obtida com bioensaios para se verificar as concentrações de óleo com baixa (próximo a 0%) e alta (próximo a 100%) mortalidade. Quatro pedaços de folhas de papel com 20 ovos cada de *D. hyalinata* com até 24 horas foram cortados com posturas desse inseto. Cada um dos óleos botânicos (canela, cravo e laranja) e o produto a base de nim (Azamax[®]) foram diluídos em acetona nas concentrações de 0,25%, 0,5%, 1%, 5%, 10% e 15% e na acetona pura (testemunha) e aplicados sobre cada grupo das posturas, deixando secar ao ar livre por 30 minutos e, em seguida, individualizadas em placas de Petri (8,5 cm de diâmetro). A viabilidade dos ovos foi avaliada diariamente por seis dias, tempo suficiente para eclosão das larvas daqueles vivos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições, cada uma com 20 ovos (Tavares et al., 2011).

Lagartas

A faixa de mortalidade de lagartas de 0 até 100% foi obtida em testes preliminares. Os óleos essenciais de canela, cravo e laranja e o produto natural a base de nim (Azamax[®]) foram diluído em acetona no momento da montagem dos experimentos. Discos com 2,5 cm de diâmetro foram feitos de folhas de abóbora coletadas no Insetário da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Esses discos foram imersos por dez

segundos nos óleos botânicos nas concentrações de 1%, 5%, 10%, 15% e 20% e na acetona pura (testemunha) e deixados secar ao ar livre por 30 minutos. Um disco e uma lagarta de terceiro estágio de *D. hyalinata* foram colocados por placa de Petri (8,5 cm de diâmetro). A mortalidade das lagartas foi avaliada após 24 h e 48h do contato com os produtos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições, cada uma com 10 lagartas de *D. hyalinata* (Baskar e Ignacimuthu, 2012).

Pupas

As faixas de mortalidade de pupas de 0 até 100% foram obtidas por testes preliminares. Os óleos essenciais de canela, cravo e laranja e o produto natural a base de nim (Azamax[®]) foram diluídos em acetona no momento da montagem do experimento, nas concentrações de 1%, 5%, 10% e 15%, 20% e 25%. Pupas de *D. hyalinata* foram mergulhadas por cinco segundos nos extratos botânicos nas diferentes concentrações e em acetona pura (testemunha) e deixadas secar ao ar livre por cerca de 10 minutos para evaporação do solvente. Após este período, foram acondicionadas em tubos de vidro (8,5 x 2,5 cm) e acompanhada a emergência dos adultos de *D. hyalinata*. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições, tendo 10 pupas de *D. hyalinata* cada uma (Cosme et al., 2009).

3.1.4 Análise estatística

A viabilidade das posturas e pupas e a mortalidade das lagartas de *D. hyalinata* foram corrigidas com a fórmula de Abbott (Abbott, 1925). Esses valores foram submetidos à análise de Probit como programa de análises estatísticas SAS (SAS Institute, 1989). As equações de regressão e os limites de confiança de 95% (Finney, 1971) foram calculados pela análise de probit para se obter as CL₅₀ e CL₉₀ utilizando-se o PROC PROBIT do SAS (SAS Institute 1997).

Resultados

A acetona não apresentou atividade tóxica para ovos, lagartas ou pupas de *D. hyalinata*.

A fase de ovos foi mais sensível aos óleos essenciais de canela, cravo, laranja e do produto comercial a base de nim Azamax[®], com CL₅₀ de 1,70; 0,97; 40,08 e 1,18 µL/ml e CL₉₀ de 6,17; 2,38 e 648,50 e 15,67 µL/ml respectivamente (Tabela 1). A inclinação das curvas de concentração-mortalidade para os ovos tratados com óleos de

canela ($2,29 \pm 0,52$) e cravo ($3,24 \pm 0,48$) foram maiores que para os com nim ($1,14 \pm 0,30$) e laranja ($1,06 \pm 0,13$) (Tabela 1).

A CL_{50} e CL_{90} do óleo de laranja e do produto Azamax[®] para lagartas não foram estimadas devido à baixa mortalidade das mesmas nesse tratamento até o período de 48h. As CL_{50} foram de $10,82 \mu\text{L/ml}$ para o óleo de canela e $18,75 \mu\text{L/ml}$ para o de cravo. A CL_{90} para os óleos de cravo foi de $46,21 \mu\text{L/ml}$ e a do óleo de canela de $37,21 \mu\text{L/ml}$ (Tabela 2). A inclinação das curvas de concentração-mortalidade do óleo de cravo foi de $3,27 \pm 0,45$ e $2,39 \pm 0,44$ para o óleo de canela (Tabela 2).

As CL_{50} para pupas foram de $14,07$; $48,92$; $90,31$ e $6,18 \mu\text{L/ml}$ para os óleos de canela, cravo, laranja e nim (Azamax[®]), respectivamente e a CL_{90} de $269,06$; $642,23$; $1079,63$ e de $16,08 \mu\text{L/ml}$ para os óleos de canela, cravo, laranja e para o Azamax[®] respectivamente (Tabela 3). Os valores inclinação das curvas de concentração-mortalidade foram de $1,00 \pm 0,29$; $1,15 \pm 0,25$; $1,19 \pm 0,20$ e $3,08 \pm 0,77$ para os óleos de canela, cravo, laranja e para o produto Azamax[®] respectivamente (Tabela 3).

Discussão

Óleos essenciais são misturas voláteis de hidrocarbonetos com diversos grupos funcionais com atividade inseticida (Isman, 2000). A rapidez da ação dos óleos essenciais pode estar relacionada a uma resposta neurotóxica como interferência do neuromodulador octopamina de invertebrados (Isman, 2006), sendo dependente da composição química de cada um e da fase de desenvolvimento da praga (Banchio et al., 2003; Zapata et al., 2006; Jiang et al., 2012). A acetona não apresentou toxicidade para *D. hyalinata* por não causar efeito nas posturas, nos imaturos e pupas desse inseto.

A ação ovicida do produto comercial a base de nim, o Azamax[®], para *D. hyalinata*, com CL_{50} de $1,18 \mu\text{l/ml}$ e CL_{90} de $15,67 \mu\text{l/ml}$ foi maior que a dos óleos essenciais de canela e laranja, porém menor em relação ao óleo de cravo. O extrato de nim apresentou atividade ovicida para *Spodoptera frugiperda* Smith, 1797 (Lepidoptera: Noctuidae) e *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Pyralidae) (Tavares et al., 2010b), *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) (Verkerk e Wright, 1993); *Sesamia calamistis* Hampson, 1910 (Lepidoptera: Noctuidae) e *Eldana saccharina* Walker, 1865 (Lepidoptera: Pyralidae) (Bruce et al., 2004). No entanto, extratos de nim e cravo não apresentaram efeito sobre posturas de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) e *Mononychellus*

tanaioa (Bondar, 1938) (Acari: Tetranychidae) respectivamente, indicando que estes ovos não apresentaram sensibilidade à esses produtos (Trindade et al., 2000; Gonçalves et al., 2001).

A toxicidade em ovos de *D. hyalinata* a todos os óleos testados e por ser o estágio mais sensível aos óleos essenciais e ao produto Azamax[®], seguida da fase de lagarta e pupa mostra que a camada lipídica ou cerosa na parte interna do córion, possivelmente um dos fatores de retenção de substâncias tóxicas e responsável pela insensibilidade aos produtos com ação ovicida (Smith e Salkeld, 1966; Trindade et al., 2000) não evitou a ação dos óleos testados contra essa praga. A morte dos embriões pode ter ocorrido pela penetração dos produtos no interior dos ovos, mas o efeito ovicida varia com a espécie do inseto, estrutura do ovo, concentração do produto e substância usada (Verkerk e Wright, 1993; Tavares et al., 2010b; Trindade et al., 2000).

Maiores valores da inclinação na curva de concentração-mortalidade verificados para os ovos tratados com óleos de canela e cravo que para os tratados com nim e laranja indicam maior homogeneidade nos dois primeiros tratamentos (canela e cravo), ou seja, pequenas variações nas doses causam grandes variações na mortalidade mostrando maior susceptibilidade na fase de ovo aos óleos essenciais de canela e cravo com aumento das concentrações (Kerns e Gaylor 1992).

A toxicidade de óleos de canela e cravo para os imaturos, com CL₅₀ de 10,82 e 18,75 µl/ml e CL₉₀ de 37,21 e 46,21 µl/ml respectivamente, mostra atividade inseticida destes óleos, provavelmente, pelo eugenol, componente majoritário dos óleos essenciais de cravo e canela, confirmando o potencial inseticida deste composto secundário (Jayaprakasha e Rao, 2011; Akhtar et al., 2012). Os óleos essenciais dessas plantas apresentaram atividades inseticidas contra *S. litura* (Birah et al., 2010) e *T. ni* (Akhtar et al., 2012). A inclinação das curvas de concentração-mortalidade do óleo de cravo (3,27 ± 0,45) foi maior que o óleo de canela (2,39 ± 0,44) sugerindo maior homogeneidade à população de *D. hyalinata*. O eugenol, provavelmente, foi o responsável pela ação inseticida em lagartas, assim como observado para ovos e pupas de *D. hyalinata*.

O baixo índice de mortalidade de lagartas de *D. hyalinata* no tratamento com nim e laranja com até 48 horas de exposição a estes produtos não permitiu estimar as CL₅₀ e CL₉₀ para este estágio, e as mesmas pararam de alimentar com o aumento das concentrações dos produtos. Apesar de baixa mortalidade o desenvolvimento das sobreviventes foi prejudicado para os dois tipos de óleos, mostrando que o tempo de 48h pode ter sido insuficiente para observar o efeito letal desses produtos. A

mortalidade de imaturos com folhas impregnadas com nim ou óleos de laranja pode estar relacionado a deterrência alimentar por compostos secundários como a azadiractina e limoneno respectivamente (Ruberto et al., 2002; Isman, 2006; Verza et al., 2011). Este efeito de supressor de apetite foi, também, verificado para larvas de *S. frugiperda* e *P. xylostella* expostas a óleos de plantas cítricas e ao Neemix 4.5[®] (produto comercial a base de nim) respectivamente (Ruberto et al., 2002, Charleston et al., 2006). Podendo levar a morte, com o tempo, por inanição alimentar, tornar as lagartas mais frágeis a predação e ao parasitismo ou afetar seu desenvolvimento e a reprodução dos adultos (Bruce et al., 2004; Vianna et al., 2009). O aumento da concentração de limoneno reduziu o número de ovos de *Trioza apicalis* Förster, 1848 (Hemiptera: Triozidae), confirmando o efeito repelente desse composto para o psilídeo da cenoura (Kainulainen et al., 2002). A deterrência alimentar em insetos pode estar relacionada a ação primária com ação nos quimiorreceptores que reduzem o aproveitamento alimentar ou, secundários pelos efeitos fisiológicos após a ingestão ou contato com o composto tóxico (Mordue e Nisbet, 2000). A azadiractina apresenta principalmente efeito de deterrente alimentar e regulador de crescimento, podendo impedir que o inseto atinja a fase adulta (Mordue e Blackell, 1993) como *S. frugiperda* (Tavares et al., 2010a); *P. xylostella*, (Charleston et al., 2006); *S. calamistis* e *E. saccharina* (Bruce et al., 2004).

O impacto dos óleos essenciais (canela, cravo e laranja) e do produto Azamax[®] mostra que penetraram nas pupas afetaram a viabilidade das mesmas. As CL₅₀ e CL₉₀ mostram que o óleo de canela foi mais tóxico para pupas de *D. hyalinata*, seguido dos de cravo e laranja. O produto comercial Azamax[®], também apresentou toxicidade com CL₅₀ e CL₉₀ de 6,18 e 16,08 µl/ml respectivamente, sendo o mais sensível às pupas em resposta ao aumento da concentração, apresentando maior inclinação da curva de concentração-mortalidade ($3,08 \pm 0,77$). Óleos essenciais inibem ou afetam o desenvolvimento de pupas (Tanzubil e Mcafferry, 1990; Brunherotto e Vendramim, 2001; Alvarenga et al., 2012) como a redução da emergência de adultos de larva minadora por extratos de *Melia azedarach* (Banchio et al., 2003).

O óleo de *C. sinensis* foi menos tóxico por necessitar de maiores concentrações dos produtos (óleos e Azamax[®]) para causar mortalidade de 50% e 90% de *D. hyalinata* independente da fase de desenvolvimento. O limoneno é o principal componente do óleo essencial de plantas cítricas e a principal substância com ação inseticida (Tripathi et al., 2003; Hafeez e Akram, 2011). Este composto secundário é da classe dos terpenos associados à ação supressora de apetite ou inibidora de crescimento em insetos (Viegas

Jr, 2003). Óleos de citros foram tóxicos para pragas de grãos armazenados como *Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Bostrichidae), *Sitophilus oryzae* (Linnaeus, 1763) (Coleoptera: Curculionidae) e *Tribolium castaneum* (Herbst., 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae) (Tripathi et al., 2003) e para larvas de *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae) (Hafeez et al., 2011).

Conclusões

Óleos essenciais representam uma alternativa para o manejo de *D. hyalinata* em substituição aos produtos sintéticos convencionais. O produto Azamax[®], usado comercialmente como fagodeterrente, comprovou deterrência alimentar para lagartas e ação tóxica em ovos e pupas de *D. hyalinata*.

Todos os óleos afetaram as fases de ovo, lagarta e pupa de *D. hyalinata*, mas os óleos de canela e cravo foram mais tóxicos e o de laranja o menos tóxico. A toxicidade desses óleos variou com sua concentração e fase do desenvolvimento de *D. hyalinata*. O óleo de canela foi mais tóxico para lagartas e pupas e o de cravo para ovos desse inseto.

Agradecimentos

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

Referências

- ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v.18, p.265-267, 1925.
- AKHTAR, Y.; PAGES, E.; STEVENS, A.; BRADBURY, ROD; DA CAMARA, C. A.G.; ISMAN, M.B. Effect of chemical complexity of essential oils on feeding deterrence in larvae of the cabbage looper. **Physiological Entomology**, v.37, p.81-89, 2012.
- ALVARENGA, C.D.; FRANÇA, W.M.; GIUSTOLIN, T.A.; PARANHOS, B.A.J.; LOPES, G.N.; CRUZ, P.L.; BARBOSA, P.R.R. Toxicity of neem (*Azadirachta indica*) seed cake to larvae of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae), and its parasitoid, *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). **Florida Entomologist**, v.95, p.57-62, 2012.
- ANDRADE-COELHO, C.A.; SOUZA, N.A.; GOUVEUA, C.; SILVA, V.C.; GONZALEZ, M.S.; RANQUEL, E.F. Effect of fruit and leaves of Meliaceae plants (*Azadirachta indica* and *Melia azedarach*) on the development of *Lutzomyia longipalpis* larvae (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) under experimental conditions. **Journal of Medical Entomology**, v.46, p.1125-1130, 2009.
- ASSIS, C.P.O; GONDIM JR., M.G.C.; SIQUEIRA, H.A.A.; CÂMARA, C.A.G. Toxicity of essential oils from plants towards *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) and *Suidasia pontifica* Oudemans (Acari: Astigmata). **Journal of Stored Products Research**, v.47, p.311-315, 2011.
- BANCHIO, E.; VALLADARES, G.; DEFAGO, M.; PALACIOS, S.; CARPINELLA, C. Effects of *Melia azedarach*, (Meliaceae) fruit extracts on the leafminer *Liriomyza huidobrensis*, (Diptera, Agromyzidae): Assessment in laboratory and field experiments. **Annals of Applied Biology**, v.143, p.187-193, 2003.
- BANIADAMI, Y.; AHMADI, K.; TAKALLOOZADEH, H. Reproduction and longevity of the cabbage aphid [*Brevicoryne brassicae* (L.)] after exposure to ethanolic extract of clove (*Syzygium aromaticum* L.). **Planta Medica**, v.77, p.1423-1423, 2011.
- BASKAR, K.; IGNACIMUTHU, S. Antifeedant, larvicidal and growth inhibitory effects of ononitol monohydrate isolated from *Cassia tora* L. against *Helicoverpa armigera* (Hub.) and *Spodoptera litura* (Fab.) (Lepidoptera: Noctuidae). **Chemosphere**, v.88, p. 384- 388, 2012.

- BIRAH, A.; SHARMA, T.V.R.S.; SINGH, S.; SRIVASTAVA, R.C. Effect of aqueous leaf extract of cloves (*Syzygium aromaticum*) on growth and development of tobacco caterpillar (*Spodoptera litura*). **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v.80, p.534-537, 2010.
- BRUCE, Y.A., GOUNOU, S., CHABI-OLAYE, A., SMITH, H., SCHULTHESS, F., The effect of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) oil on oviposition, development and reproductive potentials of *Sesamia calamistis* Hampson (Lepidoptera: Noctuidae) and *Eldana saccharina* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). **Agricultural and Forest Entomology**, v.6, p.223-232, 2004.
- BRUNHEROTTO, R.; VENDRAMIM, J.D. Bioatividade de extratos aquosos de *Melia azedarach* L. sobre o desenvolvimento de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em tomateiro. **Neotropical Entomology**, v.30, p.455-459, 2001.
- BRUNHEROTTO, R.; VENDRAMIM, J.D.; ORIANI, M.A.G. Efeito de genótipos de tomateiro e de extratos aquosos de folhas de *Melia azedarach* e de sementes de *Azadirachta indica* sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Neotropical Entomology**, v.39, p.784-791, 2010.
- CHAIEB, K.; HAJLAOUI, H.; ZMANTAR, T.; KAHLA-NAKBI, A.B.; ROUABHIA, M.; MAHDOUANI, K.; BAKHROUF, A. The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): A short review. **Phytotherapy Research**, v.21, p.501-506, 2007.
- CHARLESTON, D.S.; KFIR, R.; DICKE, M.; VET, L.E. Impact of botanical extracts derived from *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* on populations of *Plutella xylostella* and its natural enemies: A field test of laboratory findings. **Biological Control**, v.39, p.105-114, 2006.
- COITINHO, R.L.B.C.; OLIVEIRA, J.V.; JUNIOR, M.G.C.G.; CÂMARA, A.G. Toxicidade por fumigação, contato e ingestão de óleos essenciais para *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885 (Coleoptera: Curculionidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, p.172-178, 2011.
- COSME, L.V.; CARVALHO, G.A.; MOURA, A.P.; PARREIRA, D.S. Toxicidade de óleo de nim para pupas e adultos de *Chrysoperla externa* (hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). **Arquivos do Insituto Biológico**, v.76, p.233-238, 2009.
- COSTA, J.G.M.; RODRIGUES, F.F.G.; ANGÉLICO, E.C.; SILVA, M.R.; MOTA, M.L.; SANTOS, N.K.A.; CARDOSO, A.L.H., LEMOS, T.L.G. Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidóides* e *Syzygium*

aromaticum frente às larvas do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, p.304-309, 2005.

EL-HAG, E.A.; EL-NADI, A.H.; ZAITOON, A.A. Toxic and growth retarding effects of three plant extracts on *Culex pipiens* larvae (Diptera: Culicidae). **Phytotherapy Research**, v.13, p.388-392, 1999.

FINNEY, D.J. 1971. Probit Analysis. **Cambridge University Press**, London.

GONÇALVES, M.E.C.; OLIVEIRA, J.V.; BARROS, R.; TORRES, J.B. Efeito de extratos vegetais sobre estágios imaturos e fêmeas adultas de *Mononychellus tanajoa* (Bondar) (Acari: Tetranychidae). **Neotropical Entomology**, v.30, p.305-309, 2001.

GONRING, A.H.R.; PICANCO, M.C.; GUEDES, R.N.C.; SILVA, E.M. Natural biological control and key mortality factors of *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Pyralidae) in cucumber. **Biocontrol Science and Technology**, v.13, p.361-366, 2003.

GREENE, G.L.; LEPPLA, N.C.; DICKERSON; W.A. Velvetbean caterpillar: A rearing procedure and artificial diet. **Journal of Economic Entomology**, v.69, p.487-488, 1976.

HAFEEZ, F.; AKRAM, W.; SHAALAN, E.A.S. Mosquito larvicidal activity of citrus limonoids against *Aedes albopictus*. **Parasitology Research**, v.109, p.221-229, 2011.

HANSPETERSEN, H.N.; MCSORLEY, R.; LIBURD, O.E. The impact of intercropping squash with non-crop vegetation borders on the above-ground arthropod community. **Florida Entomologist**, v.93, p.590-608, 2010.

HEDIN, P. A. New concepts and trends in pesticide chemistry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.30, p.201-215, 1982.

HOLLINGSWORTH, R.G. Limonene, a citrus extract, for control of mealybugs and scale insects. **Journal of Economic Entomology**, v.98, p.772-779, 2005.

HUANG, Y.; HO, S.H.; LEE, H.C.; YAP, Y.L. Insecticidal properties of eugenol, isoeugenol and methyleugenol and their effects on nutrition of *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Stored Products Research**, v.38, p.403-412, 2002.

IBRAHIM, M.A.; KAINULAINEN, P.; AFLATUNI, A.; TIILIKKALA, K; HOLOPAINEN, J.K. Insecticidal, repellent, antimicrobial activity and phytotoxicity of essential oils: With special reference to limonene and its suitability for control of insect pests. **Agricultural and Food Science**, v.10, p.243-259, 2001.

ISMAN, M. B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, v.9, p.603-608, 2000.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v.51, p.45-66, 2006.

JAYAPRAKASHA, G.K.; JAGAN, M.R.L.; SAKARIAH, K.K. Chemical composition of the flower oil of *Cinnamomum zeylanicum* Blume. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.4294-4295, 2000.

JAYAPRAKASHA, G.K.; RAO, L.J.M. Chemistry, biogenesis, and biological activities of *Cinnamomum zeylanicum*. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.51, p.547-562, 2011.

JIANG, Z. L.; AKHTAR, Y.; ZHANG, X.; BRADBURY, R.; ISMAN, M. B. Insecticidal and feeding deterrent activities of essential oils in the cabbage looper, *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Applied Entomology**, v.136, p.191-202, 2012.

KAINULAINEN, P.; NISSINEN, A.; PIIRAINEN, A.; TIILIKKALA, K.; HOLOPAINEN, J.K. Essential oil composition in leaves of carrot varieties and preference of specialist and generalista. **Agricultural and Forest Entomology**, v.4, p.211-216, 2002.

KERNS, D.L.; GAYLOR, M.J. Insecticide resistance in field populations of the cotton aphid (Homoptera, Aphididae). **Journal of Economic Entomology**, v.85, v.1-8, 1992.

KOUL, O. Biological activity of volatile di-n-propyl disulfide from seeds of neem, *Azadirachta indica* (Meliaceae), to two species of stored grain pests, *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst). **Journal of Economic Entomology**, v.97, p.1142-1147, 2004.

LEITE, G.L.D.; MOREIRA, E.D.S.; MOTA, V.A.M.; FERREIRA, I.C.P.V.; COSTA, C.A. Artrópodes fitófagos e predadores associados em 20 acessos *Luffa* sp. em sistema orgânico. **Revista Ciência Agronômica**, v.42, p.986-992, 2011.

MORDUE, A.J.; BLACKWELL, A. Azadirachtin: an update. **Journal of Insect Physiology**, v.39, p.903-924, 1993.

MORDUE, A.J.L.; NISBET, A.J. Azadirachtin from the neem tree *Azadirachta indica* its actions against insects. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.29, p.616-632, 2000.

MOREIRA M.D.; PICANÇO, M.C.; BARBOSA, L.C.A.; GUEDES, R.N.C.; BARROS, E.C.; CAMPOS, M.R. Compounds from *Ageratum conyzoides*: isolation,

structural elucidation and insecticidal activity. **Pest Management Science**, v.63, p.615-621, 2007.

PARANAGAMA, P.A.; GUNASEKERA, J.J. The efficacy of the essential oils of sri lankan *Cinnamomum zeylanicum* fruit and *Micromelum minutum* leaf against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Essential Oil Research**, v.23, p.75-82, 2011.

PARK, B. S.; LEE, S.E.; CHOI, W.S; JEONG, Y.J.; SONG, C.; CHO, K.Y. Insecticidal and acaricidal activity of piperonaline and piperocadecalidine derived from dried fruits of *Piper longum* L. **Crop Protection**, v.21, p.249-251, 2002.

PRAJAPATI, V.; TRIPATHI, A.K.; AGGARWAL K.K.; KHANUJA, S.P.S. Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **Bioresource Technology**, v.96, p.1749-1757, 2005.

PRATES, H.T.; SANTOS, J.P.; WAQUIL, J.M.; FABRIS, J.D.; OLIVEIRA, A.B.; FOSTER, J.E. Insecticidal activity of monoterpenes against *Rhyzopertha dominica* (F.) and *Tribolium castaneum* (Herbst). **Journal of Stored Products Research**, v.34, p.243-249, 1998.

PRATISSOLI, D.; POLANCZYK, R.A.; HOLTZ, A.M.; TAMANHONI, T.; CELESTINO, F.N.; BORGES FILHO, R.C. Influence of nutritional substrates on the development of *Diaphania hyalinata* L. (Lepidoptera: Crambidae). **Neotropical Entomology**, v.37, p.361-364, 2008.

RIBEIRO, N.D. ; CAMARA, C.A.G.; BORN, FD ;de SIQUEIRA, H.A.A. Insecticidal activity against *Bemisia tabaci* biotype B of peel essential oil of *Citrus sinensis* var. pear and *Citrus aurantium* cultivated in Northeast Brazil. **Natural Product Communications**, v.5, p.1819-1822, 2010.

ROEL; A.R.; DOURADO, D.M.; MATIAS, R.; PORTO, K.R.A.; BEDNASKI, A.V.; COSTA, R.B. The effect of sub-lethal doses of *Azadirachta indica* (Meliaceae) oil on the midgut of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.54, p.505-510, 2010.

RUBERTO, G.; RENDA, A.; TRINGALI, C.; NAPOLI, E.M.; SIMMONDS, M.J. Citrus limonoids and their semisynthetic derivatives as antifeedant agents against *Spodoptera frugiperda* larvae. A structure-activity relationship study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.6766-6774, 2002.

SAS, Institute Sas, **User`s guide: statistics**. SAS Institute Cary, NC, USA. 1997.

SCHMUTTERER, H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. **Annual Review of Entomology**, v.35, p.271-297, 1990.

SELJASEN, R.; MEADOW, R. Effects of neem on oviposition and egg and larval development of *Mamestra brassicae* L: Dose response, residual activity, repellent effect and systemic activity in cabbage plants. **Crop Protection**, v.25, p.338-345, 2006.

SMITH, E.H.; SALKELD, E.H. The use and action of ovicides. **Annual Review of Entomology**, v.11, p.331-368, 1966.

SOUZA, E.L.; STAMFORD, T.L.M; LIMA, E.O.; TRAJANO, V.N. Effectiveness of *Origanum vulgare* L. essential oil to inhibit the growth of food spoiling yeasts. **Food Control**, v.18, p.409-413, 2007.

TANZUBIL, P.B.; MCCAFFERY, A. R. Effects of azadirachtin and aqueous neem seed extracts on survival, growth and development of the African armyworm, *Spodoptera exempta*. **Crop Protection**, v.9, p.383-386, 1990.

TARELLI, G.; ZERBA, E.N.; ALZOGARAY, R.A. Toxicity to vapor exposure and topical application of essential oils and monoterpenes on *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). **Journal of Economic Entomology**, v.102, p.1383-1388, 2009.

TAVARES, W.S.; COSTA, M.A.; CRUZ, I.; SILVEIRA, R.D.; SERRÃO, J.E.; ZANUNCIO, J.C. Selective effects of natural and synthetic insecticides on mortality of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and its predator *Eriopsis conexa* (Coleoptera: Coccinellidae). **Journal of Environmental Science and Health Part B**, v.45, p. 555-561, 2010a.

TAVARES, W.S.; CRUZ, I.; FONSECA, F.G., GOUVEIA, N.L.; SERRÃO, J.E.; ZANUNCIO, J.C. Deleterious activity of natural products on postures of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae). **Zeitschrift fur Naturforschung Section C-A Journal of Biosciences**, v.65, p.412-418, 2010b.

TAVARES, W.S.; CRUZ, I.; PETACCIS, F.; FREITAS, S.S.; SERRÃO, J.E.; ZANUNCIO, J.C. Insecticide activity of piperine: Toxicity to eggs of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) and phytotoxicity on several vegetables. **Journal of Medicinal Plants Research**, v.5; p.5301-5306, 2011.

TRINDADE, R.C.P.; MARQUES, I.M.R.; XAVIER, H.S.; OLIVEIRA, J.V. Extrato metanólico da amêndoa da semente de nim e a mortalidade de ovos e lagartas da traça-do-tomateiro. **Scientia Agricola**, v.57, p.407-413, 2000.

- TRIPATHI, A.K.; PRAJAPATI, V.; KHANUJA, S.P.S.; KUMAR, S. Effect of *d*-limonene on three stored-product beetles. **Journal of Economic Entomology**, v.96, p.990-995, 2003.
- VENZON, M.; ROSADO, M.C.; PALLINI, A.; FIALHO, A.; PEREIRA, C.J. Toxicidade letal e subletal do nim sobre o pulgão-verde e seu predador *Eriopis connexa*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, p.627-631, 2007.
- VERKERK, R.H.J.; WRIGHT, D.J. Biological activity of neem seed kernel extracts and synthetic azadirachtin against larvae of *Plutella xylostella* L. **Pesticide Science**, v.37, p.83-91, 1993.
- VERZA, S.S; NAGAMOTO, N.S.; FORTI, L.C.; NORONHA, N.C. Preliminary studies on the effects of *d*-limonene to workers of the leaf-cutting ant *Atta sexdens* rubropilosa and its implications for control. **Bulletin of Insectology**, v.64, p.27-32, 2011.
- VIANNA, U.R., PRATISSOLI, D., ZANUNCIO, J.C., LIMA, E.R., BRUNNER, J., SERRÃO, J.E. Insecticide toxicity to *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) females and effect on descendant generation. **Ecotoxicology**, v.18, p.180-186, 2009.
- VIEGAS, C.Jr. Terpenos com atividade inseticida: Uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v.26, p.390-400, 2003.
- ZAPATA, N.; BUDIA, F.; VINUELA, E.; MEDINA, P. Insecticidal effects of various concentrations of selected extractions of *Cestrum parqui* on adult and immature *Ceratitis capitata*. **Journal of Economic Entomology**, v.99; p.359-365, 2006.
- ZEWDE, D.K.; JEMBERE, B. Evaluation of orange peel *Citrus sinensis* (L) as a source of repellent, toxicant and protectant against *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Mekelle University**, v.2, p.61-75, 2010.
- ZIA, A.; ASLAM, M.; NAZ, F.; ILLYAS, M. Bio-efficacy of some plant extracts against chickpea beetle, *Callosobruchus chinensis* Linnaeus (Coleoptera: Bruchidae) attacking chickpea. **Pakistan Journal of Zoology**, v.43, p.733-737, 2011.

Tabela 1. Toxicidade de óleos essenciais de canela, cravo e laranja e do produto a base de nim (Azamax[®]) em ovos de *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae)

Tratamento	CL ₅₀ (IC) (µl/ml)	CL ₉₀ (IC) (µl/ml)	X ²	Inclinação ± EP	p
Canela	1,70 (1,37-2,16)	6,17 (3,94-18,73)	6,26	2,29 ± 0,52	0,3943
Cravo	0,97 (0,74-1,14)	2,38 (2,00-3,11)	7,73	3,24 ± 0,48	0,6548
Laranja	40,08 (29,26-59,50)	648,50 (327,74- 187,10)	23,48	1,06 ± 0,13	0,1726
Nim (Azamax [®])	1,18 (0,53-1,69)	15,67 (7,66-126,52)	15,46	1,14 ± 0,30	0,1162

IC= Intervalo de confiança de 95%, X²= Quiquadrado, EP= Erro padrão da média, p= Probabilidade.

Tabela 2. Toxicidade de óleos essenciais de canela, cravo e laranja e do produto a base de nim (Azamax[®]) em imaturos de *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae)

Tratamento	CL ₅₀ (IC) (µl/ml)	CL ₉₀ (IC) (µl/ml)	X ²	Inclinação ± EP	p
Canela	10,82 (6,78-14,80)	37,21 (26,56-64,99)	11,82	2,39± 0,44	0,30
Cravo	18,75 (14,75-23,85)	46,21 (35,18 -68,27)	13,66	3,27± 0,45	0,19
Laranja	NA	NA	NA	NA	NA
Nim (Azamax [®])	NA	NA	NA	NA	NA

NA, Não aplicável (mortalidades foram muito baixos para calcular valor CL₅₀ e CL₉₀).

IC= Intervalo de confiança de 95%, X²= Quiquadrado, EP= Erro padrão da média, p= Probabilidade

Tabela 3. Toxicidade de óleos essenciais de canela, cravo e laranja e do produto a base de nim (Azamax[®]) para pupas de *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae)

Tratamento	CL ₅₀ (IC) (µl/ml)	CL ₉₀ (IC) (µl/ml)	X ²	Inclinação ± EP	P
Canela	14,07 (3,51-24,94)	269,06 (111,29- 4849,87)	10,43	1,00 ±0,29	0,4040
Cravo	48,92 (30,68-75,85)	642,23 (279,01-4718,81)	13,40	1,15± 0,25	0,4957
Laranja	90,31 (63,86-126,75)	1079,63 (554,57-3771,42)	24,62	1,19 ± 0,20	0,3153
Nim (Azamax [®])	6,18 (4,55-7,65)	16,08 (11,09-36,52)	4,53	3,08± 0,77	0,9203

IC= Intervalo de confiança de 95%, X²= Quiquadrado, EP= Erro padrão da média, p= Probabilidade

Conclusões gerais

Trichospilus diatraeae pode ser utilizado para multiplicação no hospedeiro natural *D. hyalinata* e apresenta potencial para o controle biológico dessa praga.

Até oito indivíduos de *T. diatraeae* por pupa de *D. hyalinata* é adequado para multiplicação desse parasitoide, embora menores densidades possam ser usadas.

Trichospilus diatraeae não discrimina pupas mais velhas de *D. hyalinata*, o que aumenta seu potencial para o controle biológico dessa praga.

O produto comercial Azamax[®] foi eficiente, principalmente, no controle de ovos e pupas de *D. hyalinata*, mas a taxa de mortalidade de imaturos desse inseto foi baixa nas primeiras 48 horas de contato, necessitando de um maior período de avaliação para verificar seu efeito sobre as lagartas.

Os óleos de *S. aromaticum* (canela); *C. zeylanicum* (cravo) e *C. sinensis* (laranja) reduziram a viabilidade dos ovos e a emergência dos adultos de *D. hyalinata*. O óleo de canela foi mais tóxico para lagartas e pupas e o de cravo para posturas, com menores valores de CL₅₀ e CL₉₀ para essas fases do desenvolvimento de *D. hyalinata*.