

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

BIOLOGIA DE *Cirrospilus neotropicus* DIEZ & VIDALGO (HYMENOPTERA:
EULOPHIDAE) E ATIVIDADES DE PARASITISMO E PREDAÇÃO SOBRE O
MINADOR-DOS-CITROS, *Phyllocnistis citrella* STANTON (LÉPIDOPTERA:
GRACILLARIIDAE)

Ester Foelkel
Engenheira Agrônoma (UFRGS)

Dissertação apresentada como um dos
requisitos à obtenção do Grau de
Mestre em Fitotecnia
Área de Concentração Fitossanidade

Porto Alegre (RS), Brasil
Março de 2007

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Lorena David Foelkel e Celso E. B. Foelkel por todo o apoio, compreensão e incentivo durante todos os momentos difíceis por que passei no período de mestrado. Obrigada por acreditarem no meu potencial.

Ao meu amor, Eduardo Cesar Brugnara, que se mostrou um companheiro para a vida toda nesta época de estudo. Agradeço por toda a ajuda, talvez eu nunca consiga retribuir tudo o que você fez e continua fazendo por mim.

À minha irmã Ale e ao seu marido Carlinhos, que também fazem parte de minha vida, me incentivando e ajudando quando necessário.

À orientadora e professora Dra. Luiza Rodrigues Redaelli pela oportunidade da realização do mestrado e pela valiosa orientação, dedicação e amizade.

À co-orientadora, agora também professora da UFRGS, Dra. Simone Mundstock Jahnke, pelos conselhos e pela amizade.

Aos professores Sérgio Schwars e Paulo Vitor Dutra de Souza que inúmeras vezes me conduziram até a Estação Experimental Agronômica da UFRGS, além de me ajudarem com as mudas de citros em tubetes, me fornecendo materiais para a pesquisa e solucionando dúvidas.

Ao professor Josué Sant'Ana pela ajuda e resolução de dúvidas sobre o meu projeto de pesquisa.

À bolsista de iniciação científica Paula Baierle Losekann, pela amizade e auxílio que foram fundamentais para o andamento do projeto.

Ao bolsista de iniciação científica Rafael Meirelles pelo esforço e ajuda com as mudas de citros.

Aos amigos de todo o BIOECOLAB (os que já se foram e os que são recém-chegados). Obrigada: Aline, Caio, Cristiane, Deisi, Fernando, Igor, Janaína, Luciane, Rafael Lorscheiter, Ricardo, Roberta, Rogério, Rosana, Silvia, Tacimara e Thiago.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e ao CNPq pela oportunidade e pela bolsa de estudos.

A todos que de alguma forma contribuíram para o andamento desse projeto de pesquisa durante esses dois anos de estudo.

BIOLOGIA DE *Cirrospilus neotropicus* DIEZ & FIDALGO (HYMENOPTERA:EULOPHIDAE) E ATIVIDADES DE PARASITISMO E PREDAÇÃO SOBRE O MINADOR-DOS-CITROS, *Phyllocnistis citrella* STANTON (LEPIDOPTERA: GRACILLARIIDAE)¹

Autora: Ester Foelkel

Orientadora: Luiza Rodrigues Redaelli

Co-orientadora: Simone Mundstock Jahnke

RESUMO

A biologia de *Cirrospilus neotropicus*, tendo como hospedeiro larvas de terceiro instar de *Phyllocnistis citrella* criadas em folhas de limoeiro 'Cravo' (*Citrus limonia* Osb.), foi avaliada em estufa climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; fotofase de 12 horas), registrando-se a duração das fases imaturas, viabilidade, longevidade e as atividades de parasitismo e predação. Avaliaram-se dois grupos de fêmeas de *C. neotropicus*, um provindo de câmaras pupais de *P. citrella* coletadas em pomares de citros da Estação Experimental Agronômica da UFRGS e outro de uma criação de laboratório. As fêmeas *C. neotropicus* foram mantidas em caixas gerbox, recebendo, a cada 48 horas, 12 larvas de *P. citrella* (substrato de oviposição), mel e pólen. O ciclo médio de ovo-adulto, respectivamente, para os indivíduos gerados por fêmeas de campo e laboratório foi de 11,76 e 11,56 dias para fêmeas e 10,96 e 10,57 dias para machos. A menor viabilidade foi registrada para a fase larval na prole de ambos os grupos de fêmeas, 57,3% - campo e 57,4% - laboratório. A longevidade média de fêmeas acasaladas (21,78 dias) foi superior a das não acasaladas (9,1 dias) no grupo do campo, o mesmo verificou-se para machos de laboratório. Registrhou-se, nos dois grupos, partenogênese arrenotoca, realização de picadas alimentícias (predação), parasitismo simples e superparasitismo. Constatou-se a morte por predação em 19,51% dos hospedeiros expostos às fêmeas do campo e em 25,11% dos expostos às de laboratório. Do total de hospedeiros mortos, 80,85% foi devido ao parasitismo no grupo exposto às fêmeas de campo e 79,9% naquele exposto às de laboratório. Registrhou-se 6,92% de hospedeiros mortos com superparasitismo no grupo de fêmeas do campo e 3,51% naquele exposto às de laboratório. Os resultados indicam que *C. neotropicus* é um inimigo natural importante para o minador-dos-citros.

¹Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (78p.) Março, 2007.

BIOLOGY OF *Cirrospilus neotropicus* DIEZ & FIDALGO (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE), AND ITS PARASITISM AND PREDATION ACTIVITIES IN CITRUS LEAFMINER *Phyllocnistis citrella* STANTON (LEPIDOPTERA: GRACILLARIIDAE)¹

Author: Ester Foelkel

Adviser: Luiza Rodrigues Redaelli

Co-Adviser: Simone Mundstock Jahnke

ABSTRACT

The biology of *Cirrospilus neotropicus* reared on third instar *Phyllocnistis citrella* larvae having *Citrus limonia* as host plant was evaluated under controlled conditions ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; 12 hours photophase). The survival, immatures development, longevity, parasitism and predation activities of *C. neotropicus* was registered. Two groups of parasitoid females were evaluated: one, in which pupae were collected on field planted citrus orchards at EEA-UFRGS, and the other group came from laboratory rearing. These females, after mating, were maintained individually on Gerbox containers with honey and pollen as food source. At each 48 hours, 12 *P. citrella* larvae were changed. The average biological cycle of the female progenies from orchard and laboratory generation groups were 11.76 and 11.56 days, respectively. The males progenies had biological cycles of 10.96 and 10.57 days, as well. The shortest immature survival period, for both studied groups was the larval (57.3% - field orchard group and 57.4% - lab group). The mated females average longevity (21.78 days) was superior than the non mated ones (9.1 days) for the field orchard group. The same trend was also observed for males from the lab group. Arrhenotokous parthenogenesis, host feeding (predation), simple parasitism and superparasitism were registered in both evaluated groups. From the total exposed hosts, 19.51% were killed in the field orchard group and 25.11% in the lab one, showing the good predation potential behavior of the parasitoid. Average hosts with parasitism percentages were 80.85% for the field orchard group and 79.9% for the lab group. Superparasitism registered was 6.92% from the total hosts killed by the field orchard group and 3.512% killed by the lab group. The results are good indications that *C. neotropicus* is an important natural enemy to the citrus leaf miner pest.

¹Master of Science dissertation in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (78p.) March, 2007.

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1 Citros – origem, distribuição e importância econômica	1
1.2 <i>Phyllocnistis citrella</i> Stainton, 1856 (Lepidoptera: Gracillariidae)	2
1.2.1 Origem, distribuição e hospedeiros	2
1.2.2 Danos e importância econômica	4
1.2.3 Ciclo biológico de <i>Phyllocnistis citrella</i>	5
1.3 Parasitóides no controle biológico: características e comportamentos	6
1.4 Controle biológico e parasitóides de <i>Phyllocnistis citrella</i>	10
1.5 Ciclo biológico de parasitóides associados a <i>P. citrella</i>	14
1.5.1 <i>Cirrospilus neotropicus</i>	18
1.6 Objetivos	21
CAPÍTULO II- ASPECTOS BIOLÓGICOS DE <i>Cirrospilus neotropicus</i> (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) SOB CONDIÇÕES CONTROLADAS	22
2.1 Introdução	22
2. 2 Material e métodos.....	24
2.2.1 Criação de <i>Phyllocnistis citrella</i>	24
2.2.2 Criação de <i>Cirrospilus neotropicus</i>	25
2.2.3 Biologia de <i>Cirrospilus neotropicus</i>	27
2.3 Resultados e Discussão.....	30
2.3.1 Desenvolvimento das fases imaturas	30
2.3.2 Duração e viabilidade das fases de ovo, larva e pupa	33
2.3.3 Longevidade, progênie idade-dependente e razão sexual.....	40
2.3.4 Fecundidade, taxas de oviposição e picadas alimentícias de fêmeas de <i>Cirrospilus neotropicus</i>	46
CAPÍTULO III - COMPORTAMENTOS DE PREDAÇÃO E PARASITISMO DE <i>Cirrospilus neotropicus</i> (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EM <i>Phyllocnistis citrella</i> (LEPIDOPTERA: GRACILLARIIDAE).....	48
3.1 Introdução	48

3.2 Material e métodos.....	50
3.3 Resultados e Discussão.....	52
CAPÍTULO IV - CONCLUSÕES	67
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69

RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
2.1 Duração média (dias) ± EP das fases de ovo, larva, pupa e do ciclo biológico de machos e fêmeas de <i>Cirrospilus neotropicus</i> das proles provenientes de fêmeas da geração de campo e de laboratório, criados sobre <i>Phyllocnistis citrella</i> (25 ± 1 °C; fotofase 12 horas).....	33
2.2 Duração média (dias) ± EP das fases de ovo, larva, pupa e do ciclo biológico de machos e fêmeas de <i>Cirrospilus neotropicus</i> das proles provenientes de fêmeas da geração de campo e de laboratório, criados sobre larvas de <i>Phyllocnistis citrella</i> apresentando superparasitismo ou parasitismo simples (25 ± 1 °C; fotofase 12 horas).....	36
2.3 Duração média (dias) ± EP das fases de ovo, larva, pupa e do ciclo biológico de machos e fêmeas de <i>Cirrospilus neotropicus</i> das proles provenientes de fêmeas da geração de campo e de laboratório, criados sobre larvas de <i>Phyllocnistis citrella</i> com e sem picadas alimentícias (25 ± 1 °C; fotofase 12 horas).....	37
2.4 Viabilidade média (%) ± EP das fases imaturas das proles das fêmeas de <i>Cirrospilus neotropicus</i> da geração de campo e da de laboratório desenvolvidas em <i>Phyllocnistis citrella</i> (25 ± 1 °C; fotofase 12 horas).....	38
2.5 Viabilidade média (%) ± EP das fases imaturas das proles das fêmeas de <i>Cirrospilus neotropicus</i> da geração de campo e da de laboratório desenvolvidas em diferentes condições de <i>Phyllocnistis citrella</i> (25 ± 1 °C; fotofase 12 horas).....	40
2.6 Longevidade média (dias) ± EP de machos e fêmeas de <i>Cirrospilus neotropicus</i> das gerações de campo e de laboratório acasalados e não acasalados (25 ± 1 °C; fotofase 12 horas).....	41

2.7 Valores médios \pm EP, máximos e mínimos de fecundidade, taxa de oviposição (ovos/dia) e taxa de picadas alimentícias (larvas picadas/dia) registradas para as fêmeas de <i>Cirrospilus neotropicus</i> de gerações provindas do campo e de laboratório, ambas tendo como hospedeiro <i>Phyllocnistis citrella</i> (25 ± 1 °C; fotofase 12 horas).....	46
3.1 Percentual médio \pm EP de larvas de terceiro instar de <i>Phyllocnistis citrella</i> mortas em diferentes condições por fêmeas de <i>Cirrospilus neotropicus</i> da geração de campo e de laboratório (25 ± 1 °C; fotofase 12 horas).....	56

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
1.1 <i>Phylloconistis citrella</i> (Lepidoptera: Gracillariidae). (A) adulto e (B) larva.....	3
1.2 (A) Fêmea e (B) macho de <i>Cirrospilus neotropicus</i> (Hymenoptera: Eulophidae).....	20
2.1 Fluxograma da criação de <i>Phylloconistis citrella</i> em câmara climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; $65 \pm 10\%$ UR; fotofase 12 horas). (A) Pote com folhas de citros com câmaras pupais; (B) Adulto de <i>P. citrella</i> ; (C) Gaiola de acasalamento de <i>P. citrella</i> ; (D) Muda de limoeiro ‘Cravo’ em tubete; (E) Broto com minas de larvas de 3º instar de <i>P. citrella</i> ; (F) Tubo de vidro com câmara pupal de <i>P. citrella</i>	26
2.2 Fluxograma da criação de <i>Cirrospilus neotropicus</i> em estufa climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; fotofase 12 horas). (A) Pomar de citros na Estação Experimental Agronômica da UFRGS; (B) Pote com folhas de citros contendo câmaras pupais de <i>Phylloconistis citrella</i> ; (C) Tubos utilizados para acasalamento; (D) Caixa Gerbox contendo meio AA 2% e folhas de citros com larvas de <i>P. citrella</i> ; (E) Placa de Petri com uma folha de citros com larva de <i>P. citrella</i> parasitada; (F) Tubos de vidro para manutenção de adultos de <i>C. neotropicus</i>	26
2.3 (A) Larva de <i>Phylloconistis citrella</i> com um ovo de <i>Cirrospilus neotropicus</i> ; (B) Ovo de <i>Cirrospilus neotropicus</i>	31
2.4 (A) Larva de <i>Cirrospilus neotropicus</i> recém-eclodida; (B) Larva de <i>C. neotropicus</i> ; (C) Larva de <i>C. neotropicus</i> no máximo do seu desenvolvimento. (D) Pré-pupa de <i>C. neotropicus</i> com mecônio liberado em colunas; (E) Pupa de <i>C. neotropicus</i> com mecônio liberado numa única porção.....	31
2.5 Número médio da progênie gerada a cada dois dias por fêmeas de <i>Cirrospilus neotropicus</i> da geração de campo ($n = 23$) (A); e da de laboratório ($n = 22$) (B) em relação à idade destas ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; fotofase 12 horas).....	43

3.1 (A) Fêmea de <i>Cirrospilus neotropicus</i> e larva de <i>Phyllocnistis citrella</i> ; (B) Fêmea de <i>C. neotropicus</i> ovipositando em larva de <i>P. citrella</i>	53
3.2 (A) Aspecto da larva de <i>Phyllocnistis citrella</i> após picada alimentícia; (B) larva de <i>P. citrella</i> com 1 ovo de <i>Cirrospilus neotropicus</i> (parasitismo simples); (C) larva de <i>P. citrella</i> com 2 ovos de <i>C. neotropicus</i> (superparasitismo); (D) larva de <i>C. neotropicus</i> predando outra larva, sobre larva de <i>P. citrella</i> apresentando o corpo escuro (picada alimentícia).....	54
3.3 Número médio de larvas de <i>Phyllocnistis citrella</i> com picadas alimentícias realizadas por fêmeas de <i>Cirrospilus neotropicus</i> , a partir do quinto dia de vida, registrado a cada 48 horas, (A) da geração proveniente do campo e (B) da originada no laboratório ($25 \pm 1^{\circ}\text{C}$; fotofase 12 horas).....	58
3.4 Número médio de larvas de <i>Phyllocnistis citrella</i> parasitadas por fêmeas de <i>Cirrospilus neotropicus</i> , a partir do quinto dia de vida, registrado a cada 48 horas. (A) Geração proveniente do campo e (B) geração originada em laboratório ($25 \pm 1^{\circ}\text{C}$; fotofase 12 horas).....	59
3.5 Número médio e erro padrão de larvas de <i>Phyllocnistis citrella</i> superparasitadas por fêmeas de <i>Cirrospilus neotropicus</i> a partir do quinto dia de vida, registrado a cada 48 horas. (A) Geração proveniente do campo e (B) geração originada no laboratório ($25 \pm$ 1°C ; fotofase 12 horas).....	64
3.6 Número médio de ovos postos em larvas de <i>Phyllocnistis citrella</i> por fêmeas de <i>Cirrospilus neotropicus</i> , a partir do quinto dia de vida, registrado a cada 48 horas. (A) Geração proveniente do campo e (B) geração originada no laboratório ($25 \pm 1^{\circ}\text{C}$; fotofase 12 horas).....	65

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO GERAL

1.1 Citros – origem, distribuição e importância econômica

Os citros são plantas da família Rutaceae que têm sua origem nas regiões tropicais e subtropicais da Ásia e do arquipélago Malaio (Rodriguez et al., 1991) por volta de 20 a 30 milhões de anos atrás (Giacometti, 1991).

No Brasil, os citros foram introduzidos ainda no período colonial, entre 1530 e 1540, com cultivo de laranjeiras (Citros..., 2004), sendo o cultivo já registrado em 1567 (Graziano, 1997). No Rio Grande do Sul, o plantio de citros teve início com os açorianos por volta de 1760, nos vales dos rios Caí e Taquari, já ganhando caráter de fonte de renda (Graziano, 1997). Existem relatos de que a introdução de plantas cítricas no Rio Grande do Sul teria ocorrido anteriormente a esta data na região norte do estado, trazidas por jesuítas espanhóis (Moreira & Moreira, 1991).

A produção mundial de frutas em 2005, de acordo com FAO (2006), foi de 500 milhões de toneladas, deste total mais de 105 milhões de toneladas foram apenas de frutas cítricas, o que coloca os citros como as frutas mais produzidas e consumidas no mundo na atualidade.

A partir de 1960, o cultivo de citros no Brasil começou a ganhar espaço, sendo que hoje assume um importante papel econômico e social, ocupando uma área de mais de 800 mil hectares (Citros..., 2004, FAO, 2006). Em meados dos anos 80 o país já era o maior produtor e exportador de laranjas, o que evidencia a importância econômica desta fruta para o país. Em 2005, chegou a produzir cerca de 19% do total da safra mundial, aproximadamente 20 milhões de toneladas (FAO, 2006). No Brasil, a cadeia produtiva de citros ocupa aproximadamente 20 mil propriedades agrícolas, agregando cerca de 140 mil famílias. Destas, 60 mil são constituídas de apanhadores e 80 mil são de empregados e pequenos produtores (Gama et al., 2000).

No estado do Rio Grande do Sul, as condições climáticas e as de solo são favoráveis ao cultivo de frutas cítricas que se destinam para o consumo “in natura”. As baixas temperaturas noturnas na época de maturação favorecem o acúmulo de ácidos no suco e também de açúcares. Portanto os frutos obtidos têm boas qualidades físico-químicas (João, 1998; Schäfer et al., 2001; Souza, 2001).

Boa parte da produção de citros do Rio Grande do Sul ocorre em pequenas propriedades, a maior parte desta destinada ao mercado de frutos para mesa (GRUPEX, 2005). Em 2004, o estado produziu em torno de 556 mil toneladas de frutas cítricas em uma área de 42 mil hectares (IBGE, 2006).

1.2 *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856 (Lepidoptera: Gracillariidae)

1.2.1 Origem, distribuição e hospedeiros

Phyllocnistis citrella é um microlepidóptero nativo do Sudeste Asiático, conhecido popularmente no Brasil como minador-dos-citros (Heppner, 1993;

Cônsoli, 2001) (Figura 1.1). A espécie foi descrita somente em 1856 por Stainton a partir de exemplares coletados na Índia, apesar de já existirem relatos da sua ocorrência no Irã anteriores a 5000 a.C. (Heppner, 1993).

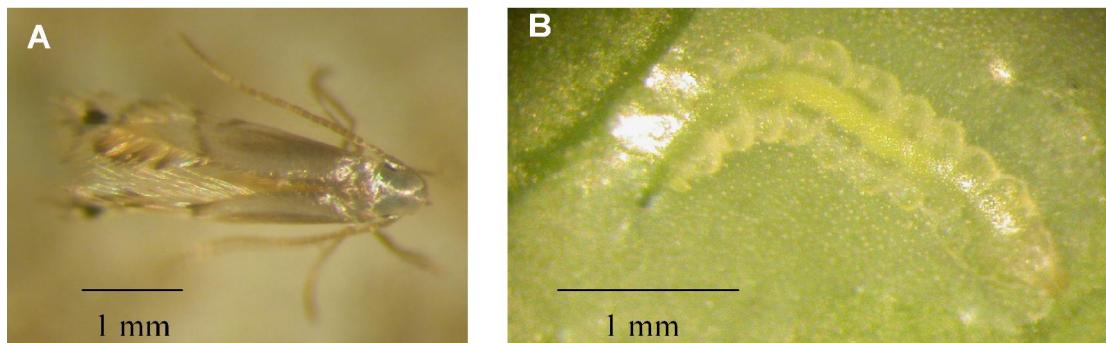


FIGURA 1.1 – *Phyloconistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). (A) adulto e (B) larva.

No início dos anos 90, *P. citrella* se espalhou rapidamente em pomares de citros pelo mundo (Hoy & Nguyen, 1997), sendo registrado no Brasil em 1996 na região de Limeira em São Paulo e, em poucos meses, por todas as outras regiões produtoras do país (Cônsoli, 2001). Segundo Hoy & Nguyen (1997), a colonização de *P. citrella* em diferentes partes do mundo pode estar associada à grande mobilidade e capacidade de dispersão dos adultos, à facilidade de ser transportado nas plantas, às taxas reprodutivas elevadas, à polivoltinia e à capacidade de desenvolver-se em uma ampla variedade de climas (Mediterrâneo, Tropical e Subtropical) e microclimas.

Dentre os hospedeiros de *P. citrella*, 80% são de Ruthaceae, podendo também ocorrer em plantas de Oleaceae, Laranthaceae, Leguminoseae,

Lauraceae, bem como em espécies ornamentais como jasmins, murta e severins (Heppner, 1993; Lourençao & Müller, 1994; Willink et al., 1996; Parra et al., 2004).

1.2.2 Danos e importância econômica

Entre os principais danos diretos que o minador-dos-citros pode causar, está a redução efetiva da superfície fotossintética da folha, através do seu enrolamento, facilitando a necrose e queda da mesma (Garijo & Garcia, 1994; Willink et al., 1996; Peña & Schaffer, 1997). Este dano é observado especialmente em plantas jovens devido à maior produção de brotações, fazendo com que a eficiência fotossintética da planta fique comprometida (Vivas & López, 1995; Hoy & Nguyen, 1997). O enrolamento das folhas causado pelas minas também pode criar micro-hábitats adequados à proliferação de pulgões, cochonilhas e de ácaros. Entretanto, a maior importância de *P. citrella* está relacionada ao fato das minas deixadas pelas lagartas facilitarem a penetração do patógeno causador do cancro cítrico, *Xanthomonas citri* pv. *citri*, referido neste estudo como *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (Chagas & Parra, 2000). Diversos estudos têm mostrado que existe correlação linear positiva entre a incidência do minador e a do cancro cítrico, (Venkateswarlu & Ramapandu ,1992; Brunings & Gabriel, 2003; INTERNATIONAL SOCIETY OF PLANT PATHOLOGY, 2004; Mavrodieva et al., 2004). Ou seja, quanto maior a incidência de minador-dos-citros no pomar, maiores serão as infestações por cancro cítrico. Esta moléstia ocasiona principalmente lesões nos frutos inviabilizando-os para a comercialização (Amaral, 2003).

1.2.3 Ciclo biológico de *Phyllocnistis citrella*

O adulto de *P. citrella* possui cerca de 4 mm de comprimento e coloração predominantemente prateada (Garijo & García, 1994; Willink et al., 1996; Cônsoli, 2001). O acasalamento ocorre, em 80% dos casos, nos dois primeiros dias após a emergência, especialmente nos primeiros trinta minutos após o amanhecer e os ovos são colocados das 20 às 8 horas, caracterizando um hábito crepuscular e noturno de postura (Parra et al., 2002; Parra et al., 2004). A fecundidade das fêmeas de *P. citrella* é variável, podendo ovipositar de 7 a 133 ovos ao longo de toda a vida, de acordo com a temperatura. A fecundidade máxima foi registrada a 25 °C, onde foram obtidos, em média, 70 ovos/fêmea (Urbaneja, 2000).

Os ovos são de difícil visualização, apresentam 0,3 mm de diâmetro, aspecto translúcido semelhante a uma pequena gota de orvalho e a maioria é encontrada na face abaxial das folhas nos brotos (Garijo & García, 1994; Willink et al., 1996; Chagas & Parra, 2000).

Phyllocnistis citrella tem, ao todo, quatro instares larvais, que duram de 5 a 20 dias. A larva de primeiro instar, com apenas 1 mm de comprimento, penetra no mesófilo foliar e inicia sua alimentação, formando galerias mais conhecidas como minas. As formas jovens de *P. citrella* possuem o extremo anterior da cabeça achatado e apresentam um par de mandíbulas que utilizam para macerar as células do parênquima das folhas, formando minas em forma de serpentina (Chagas & Parra, 2000). No período de pré-pupa, dirigem-se para as extremidades das folhas e constroem a câmara pupal, secretando fios de seda, com os quais enrolam a borda da folha e no interior desta empupam (Gravena,

1996; Chagas & Parra, 2000). A pupa possui coloração marrom e a duração desta fase varia de 6 a 22 dias (Jacas & Garrido, 1995).

O ciclo de vida total (ovo – adulto) pode durar, em média, de 11,5 a 52 dias, de acordo com a temperatura e com a variedade de citros (Chagas & Parra, 2000). Em altas temperaturas já foram observadas até 14 gerações por ano (Cônsoli et al., 1996). Chagas & Parra (2000) observaram que a 25 °C, o ciclo de ovo a adulto leva, em média, 16,5 dias. No Brasil, não foi observada a diapausa em *P. citrella*, embora esta já tenha sido registrada em outros países (Parra et al., 2004).

1.3 Parasitóides no controle biológico: características e comportamentos

Os parasitóides se destacam no controle de diversas pragas agrícolas pelo fato de serem mais específicos e, consequentemente, mais eficazes comparados à maioria dos predadores que possuem hábitos generalistas (Clausen, 1940, Jervis & Kidd, 1996). Parasitóides são insetos cujas larvas se desenvolvem alimentando-se do corpo de outros invertebrados, usualmente da mesma classe zoológica, necessitando somente um hospedeiro para completar o desenvolvimento, resultando sempre na morte do mesmo e tendo vida livre na fase adulta (Quicke, 1997). Alguns parasitóides são idiobiontes. A fêmea ao ovipositar já paralisa o hospedeiro, levando-o a morte. Já os cenobiontes, permitem que os hospedeiros continuem se alimentando e se desenvolvendo após o parasitismo, morrendo apenas na emergência dos parasitóides (Quicke, 1997; Vinson, 1998). Os parasitóides idiobiontes também podem ser ectoparasitóides, ou seja, os imaturos se alimentam externamente do corpo do

hospedeiro, enquanto que os cenobiontes, em geral, se alimentam internamente no corpo dos hospedeiros, sendo considerados endoparasitóides (Godfray, 1994; Jervis & Kidd, 1996).

Endoparasitóides e ectoparasitóides solitários podem realizar tanto parasitismo simples quanto superparasitismo. Segundo Parra et al. (2002), o parasitismo simples consiste na presença de apenas um indivíduo parasitóide se desenvolvendo em um hospedeiro. Já o superparasitismo ocorre quando vários indivíduos de uma mesma espécie se desenvolvem em um único hospedeiro, podendo estes ser resultantes da oviposição realizada por um mesmo indivíduo (auto-parasitismo), por outros da mesma espécie (superparasitismo coespecífico) ou por outros parasitóides de espécies distintas (multiparasitismo) (Strand, 1986; Dijken & Waage, 1987).

O superparasitismo pode ser muitas vezes desvantajoso, visto que resulta em competição entre os imaturos, podendo inclusive ocasionar a morte de um dos competidores (Salt, 1934; Alphen & Visser, 1990; Speirs et al., 1991; Goubault et al. 2003). De acordo com Waage (1986) e Lim & Hoy (2005), o auto-parasitismo se torna mais comum em confinamento, havendo redução na atividade de busca em função da diminuição no número de hospedeiros. Godfray (1994) ressaltou que o superparasitismo, apesar de incomum na natureza, muitas vezes ocorre pela inabilidade das fêmeas em distinguir os hospedeiros já parasitados, o que segundo o autor, pode vir a ser vantajoso, pela redução no tempo de busca e pela garantia de que pelo menos um indivíduo da prole sobreviverá.

Quando há alta densidade populacional de parasitóides em um habitat (Speirs et al., 1991; Goubault et al. 2003), o superparasitismo passa a ser mais comum, ocorrendo a competição por hospedeiros e podendo influenciar diretamente na prole: modificando a razão sexual, o tamanho dos adultos emergidos e o sucesso reprodutivo (King, 1993).

Muitas espécies de parasitóides também podem se alimentar do corpo dos hospedeiros, efetuando assim, uma predação (Jervis & Kidd, 1996; Hespenheide, 1991; Amalin et al., 2002). Esse comportamento é conhecido como picada alimentícia (host feeding). Alguns parasitóides idiobiontes, além de efetuarem a predação, também podem matar seus hospedeiros apenas “provando-os” com seus ovipositores, sem efetuar uma postura propriamente dita. Essa “prova de ovipositor”, geralmente, leva o hospedeiro à morte ocorrendo sua paralisia. A “prova de ovipositor” também serve para detectar hospedeiros parasitados (marcação interna). Na literatura, esse comportamento é chamado de “paralisia de hospedeiro” (Ridgway & Mahr, 1990; Lo Pinto et al., 2005; Lim & Hoy, 2005).

Segundo Urbaneja et al. (1998), fêmeas dos eulofídeos *Cirrospilus* próx. a *lynCUS* e *Quadrastichus* sp. realizaram picadas alimentícias em seus hospedeiros, acompanhadas ou não de oviposição. Os autores registraram uma porcentagem média de picadas sem oviposição de $21 \pm 5,7\%$ em *C. prox.* a *lynCUS* e de $8,1 \pm 2,5\%$ em *Quadrastichus* sp. A mortalidade total do hospedeiro, tanto por picadas como por parasitismo, foi próxima a 50% para ambas as espécies de parasitóide, que são idiobiontes e paralisam a presa logo após a

oviposição. Os autores observaram que *Quadraesticus* sp. mostrou preferência por realizar picadas em presas menores.

Sugimotto (1977) observou que cada indivíduo de *Kratochviliana* sp. (Hymenoptera: Eulophidae), ao longo da vida (22,8 dias), foi capaz de matar, em média, 183,3 hospedeiros [*Phytomyza ranunculi* Schrank (Diptera: Agromyzidae)] sendo que destes, 103,4 foram parasitados e 79,2 apresentavam picadas alimentícias.

Estudos realizados em casa de vegetação, na Colômbia, em cultivos comerciais de ornamentais, evidenciaram que *Diglyphus begimmi* (Asm.) (Hymenoptera: Eulophidae) provocou mortalidade de 70% sobre *Liriomyza huidobrensis* (Blanch) (Diptera: Agromyzidae), tanto por parasitismo como por predação. No final do ciclo vegetativo da cultura, a percentagem de larvas predadas variou de 35 a 40% do total de hospedeiros mortos durante todo o ciclo da cultura (Cure & Cantor, 2003).

Os eulofídeos *Cirrospilus diallus* Walker e *Cirrospilus pictus* (Nees), a 26 °C ocasionaram no total a mortalidade de 30 e 35% de *P. citrella*, respectivamente, não tendo sido constatada diferença significativa entre as espécies (Lo Pinto et al., 2005). Ambas as espécies de parasitóides também realizaram maior número de predação em relação ao de parasitismo sendo que, em torno de 70% dos hospedeiros mortos possuíam picadas alimentícias e parálisia.

O maior sucesso de predação e parasitismo depende da sincronia entre o ciclo do parasitóide e o do hospedeiro (Godfray, 1994). O instar de desenvolvimento do hospedeiro mais suscetível ao parasitismo tem que ocorrer

simultaneamente com a fase adulta do parasitóide. Logo, parasitóides que possuem essas características, além de serem longevos, são os que têm mais potencial de sucesso. Mudanças na temperatura sob condições controladas podem ajudar no ajuste da sincronia entre hospedeiro e parasitóide para testes em laboratório (Godfray, 1994; Parra et al., 2002).

1.4 Controle biológico e parasitóides de *Phyllocnistis citrella*

Os levantamentos de inimigos naturais de *P. citrella* vêm sendo realizados em todo o mundo, buscando conhecer o controle natural a campo. Os organismos encontrados têm sido avaliados em laboratório, para compreensão dos aspectos biológicos e para o futuro uso em programas de controle biológico (Urbaneja, 2000). Entretanto, apesar de existirem parasitóides nativos nas diferentes regiões onde os citros são cultivados, a introdução de parasitóides exóticos para o controle biológico de *P. citrella* tem sido realizada, buscando incrementar os níveis de parasitismo e, consequentemente, diminuir os danos causados por *P. citrella*.

Neste contexto, *Ageniaspis citricola* Logvinovskaya (Hymenoptera: Encyrtidae) tem sido considerada a espécie mais promissora (Argov & Rössler, 1996) em vários países, principalmente em decorrência do sucesso no controle de *P. citrella* em liberações na Austrália (Neale et al., 1995). Devido à eficácia de *A. citricola* no controle de *P. citrella* e sua comprovada especificidade (Milano, 2002), foram realizadas inúmeras introduções desse parasitóide exótico em vários pomares de citros no mundo. Contudo, poucos estudos foram realizados anteriormente às liberações, para registrar a fauna nativa de parasitóides existente e o impacto ambiental de insetos exóticos sobre os nativos.

O conhecimento dos inimigos naturais e o estudo da sua biologia são essenciais para determinar seu papel num programa de controle biológico.

Dentre os inimigos naturais de *P. citrella*, os parasitóides têm se destacado e são, atualmente, muito utilizados no controle biológico desta praga (Gravena, 1994). Nos levantamentos realizados no Brasil e no exterior, dentre as várias espécies de parasitóides de *P. citrella* registradas, os eulofídeos têm sido os mais freqüentes. De acordo com Paiva et al. (2000), há cerca de 40 espécies de parasitóides relatados para *P. citrella* (todos de Hymenoptera), com representantes nas famílias: Eurytomidae, Pteromalidae, Encyrtidae, Braconidae e Eulophidae, esta última com o maior número de espécies, cerca de vinte e nove.

Na Tailândia, centro de origem do minador, e na Austrália, *A. citricola* tem sido considerada a espécie de parasitóide mais promissora como agente de controle (Argov & Rössler, 1996).

No México, em Colima, Perales-Gutiérrez et al. (1996) identificaram vários himenópteros nativos parasitando *P. citrella*, especialmente da família Eulophidae (*Cirrospilus* spp., *Closterocerus* spp., *Horismenus* sp., *Zagrammosoma multilineatum* (Ashmead) e *Elasmus* sp. (este último citado como Elasmidae).

Na Itália (Sicília e Calábria), Longo et al. (1998) constataram, dentre parasitóides nativos, principalmente espécies de Eulophidae. Também na Sicília (Itália), Caleca et al. (1998) compararam taxas de parasitismo em diferentes estágios de desenvolvimento da larva minadora e verificaram que *Cirrospilus pictus* (Ness) (Eulophidae) foi a espécie nativa mais abundante. Os autores

observaram, ainda, que a introdução de *Semielacher petiolatus* (Girault) (Eulophidae) incrementou a taxa de parasitismo nas áreas estudadas.

Na província de Tucuman (Argentina), indivíduos representantes de Eulophidae foram os mais freqüentes parasitando larvas do minador-de-citros (Frias & Diez, 1998).

Schauff et al. (1998), revisando os registros efetuados no mundo, citaram mais de 41 gêneros em seis famílias de Chalcidoidea como parasitóides de *P. citrella*. Segundo os autores, esse número vem crescendo a cada ano, em função dos estudos desenvolvidos em novos sítios de colonização por *P. citrella* e pelo fato de parasitóides oportunistas estarem se adaptando ao minador-dos-citros, nos locais colonizados.

No sul do Texas (Estados Unidos da América), Legaspi et al. (1999) constataram 39 espécies de himenópteros nativos incluídos nas famílias Eulophidae, Proctotrupidae e Ceraphronidae, parasitando ovos ou fases imaturas de *P. citrella*. Segundo os autores, *Z. multilineatum* foi a espécie nativa mais abundante.

No leste da Espanha, em pomares de laranjeira doce e limoeiro, Urbaneja et al. (2000) detectaram 13 espécies nativas de microimenópteros parasitando *P. citrella*, destacando-se *Pnigalio pectinicornis* (Linnaeus) (Eulophinae), *Chrysocharis pentheus* (Walker) (Entendontinae) e três espécies de *Cirrospilus* (Eulophinae).

Betancourt & Scatoni (2001) relataram que *Cirrospilus neotropicus* Diez & Fidalgo (citado como *Cirrospilus* sp. C) foi o parasitóide de maior abundância no sul do Uruguai, durante os meses de março e abril.

Na região mediterrânea da Turquia, de 1995 a 2001, Elekçioğlu & Uygun (2006) detectaram 13 espécies de parasitóides eulofídeos e uma da família Pteromalidae parasitando *P. citrella*. Dos eulofídeos, cinco pertenciam ao gênero *Cirrospilus* [*C. ingenuus* (Gahan), *C. variegatus* (Masi), *C. pictus* (Ness), *C. vittatus* (Walker) e *C. sp. próx. lyncus* (Walker)], dois ao gênero *Neochrysocharis* e os outros distribuíam-se em sete diferentes gêneros (*Ratzemburgiola*, *Cirtostichus*, *Semielacher*, *Diglyphus*, *Pnigalio*, *Chrysocharis* e *Bariscapus*). Segundo os autores, apesar de ter ocorrido liberação de *A. citricola* em regiões próximas à área de estudo, não foi coletado nenhum exemplar desta espécie. Logo, *A. citricola*, diferentemente do ocorrido em outras regiões de liberação (Neale et al., 1995; Diez et al., 2000), não se estabeleceu na Turquia, provavelmente devido à baixa umidade do ar da região e às altas temperaturas dos meses de julho a agosto (acima de 35 °C), limitando o desenvolvimento do parasitóide.

No Brasil, são citadas principalmente os eulofídeos *Galeopsomyia fausta* LaSalle, e espécies de *Cirrospilus* e *Elasmus*; *Pachyneuron* sp. (Pteromalidae) e *Telenomus* sp. (Scelionidae) para os estados de São Paulo e do Rio de Janeiro, sendo os eulofídeos os mais freqüentes (Penteado-Dias et al., 1997; Costa et al., 1999; Nascimento et al., 2000; Montes et al., 2001 e Sá et al., 2001). Registros de *Galeopsomyia fausta* LaSalle, *Cirrospilus* sp., *Elachertus* sp. e *Elasmus* sp. (Eulophidae) são encontrados também para o estado de Santa Catarina (Garcia et al., 2001).

No Rio Grande do Sul, em levantamentos preliminares, foram registrados os eulofídeos *Elasmus* sp., *C. neotropicus* (citado como *Cirrospilus* sp.

C), *Aprostocetus* sp., *Horismenus* sp. e *G. fausta*. (Becker & Moraes, 2001). Em Montenegro, Jahnke et al. (2005) registraram os eulofídeos nativos *C. neotropicus* (citado como *Cirrospilus* sp. C), *Cirrospilus floridensis* Evans, duas espécies de *Elasmus* e *Sympiesis*. Na mesma área de estudo, Efrom (2006), observou, além dessas espécies, também o eulofídeo *Chrysocharis vonones* Walker.

1.5 Ciclo biológico de parasitóides associados a *P. citrella*

Entre os parasitóides associados a *P. citrella*, *A. citricola* é o mais estudado, uma vez que este parasitóide foi alvo de introdução em diversos países produtores de citros. Segundo Heppner (1993), *A. citricola* efetua a postura em ovos ou em larvas de primeiro instar do minador-dos-citros, e os adultos emergem da pupa. Conforme esse autor, o ciclo de vida, a 25°C, dura em torno de 15 dias. *Ageniaspis citricola* apresenta poliembrionia podendo emergir de um a 10 adultos de um único hospedeiro, apesar da média ser de 2,8 indivíduos por pupa de *P. citrella* (Smith & Hoy, 1995).

Estudando a biologia de dois himenópteros, *A. citricola* e *Cirrospilus quadristriatus* Subba Roo Romanani (Eulophidae), em casa de vegetação, em temperatura média de 30 °C e umidade relativa de 80%, Smith & Hoy (1995) verificaram que o desenvolvimento larval e pupal de *C. quadristriatus* foi entre 11 a 13 dias e a longevidade, em média, de duas semanas. Já para *A. citricola*, os autores constataram que a emergência ocorria em torno de 16 a 18 dias e a longevidade, em média, era de 3,5 dias.

Edwards & Hoy (1998), estudando a biologia de *A. citricola*, em laboratório, verificaram que fêmeas virgens produziram apenas descendentes machos, indicando que esta espécie possui partenogênese arrenótoca. Os

autores também registraram que a produção média de ovos por fêmea acasalada, foi de $141,8 \pm 38,9$, significativamente superior a das não acasaladas ($84,2 \pm 19,6$), quando o hospedeiro foi oferecido de forma abundante. Constataram ainda que a idade do hospedeiro tem efeito na oviposição, sendo o parasitismo de praticamente 100% em ovos e larvas de primeiro instar de *P. citrella*. Os autores observaram que a longevidade de machos e fêmeas foi menor do que cinco dias a 25°C e umidade relativa de 95%.

Lo Pinto (1997), estudando a biologia de *Ratzemburgiola incompleta* Boucek (Hym.: Eulophidae), a $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$; 60-70% UR, fotofase de 12 horas, observou que a duração média do ciclo biológico (incluindo machos e fêmeas) foi de 12,4 dias. A autora também constatou partenogênese arrenótoca nessa espécie e uma preferência por larvas de terceiro instar de *P. citrella*, para realizar oviposições.

Observando duas espécies de eulofídeos, *Cirrospilus* próximo a *lynCUS* e *Quadrastichus* sp., parasitóides do minador-dos-citros, nativos da Espanha, Urbaneja et al. (1998) constataram que, a 22°C , a duração média do ciclo biológico foi de $15,7 \pm 0,4$ dias para *C. próx. lyncus* e $14,8 \pm 0,4$ dias para *Quadrastichus* sp.

A influência de temperaturas constantes entre 1 a 40°C , no desenvolvimento e na sobrevivência de *C. próx. a lyncus*, tendo como hospedeiro *P. citrella*, foi observada por Urbaneja et al. (1999). Segundo os autores, o desenvolvimento completo somente ocorreu em temperaturas entre 10 e 35°C , entretanto, ovos e pupas sobreviveram em temperaturas mais baixas e mais altas, respectivamente. Os limiares, superior e inferior, de desenvolvimento foram

estimados em, respectivamente, 37,8 e 8,8 °C. Neste estudo, a taxa máxima de desenvolvimento ocorreu a 31,8 °C e a constante térmica foi de 182 graus-dia. De acordo com os resultados, os autores concluíram que sob condições climáticas típicas do Mediterrâneo, o desenvolvimento de *C. próximo a lyncus* pode continuar ao longo de todo o ano.

Em condições de laboratório, a 20 °C, Urbaneja (2000) verificou que a duração média total do ciclo biológico de *C. próximo a lyncus*, tendo como hospedeiro *P. citrella*, foi de 17 dias, dos quais 1,2 dias foram na fase de ovo, 6,2 na larval e 9,6 na pupal. A sobrevivência de ovo a adulto foi de 88%. Neste mesmo estudo, o autor registrou que a taxa máxima de oviposição diária foi a 25 °C, de 5,2 ovos/dia. O autor observou, ainda, que *C. próximo a lyncus* apresentou partenogênese arrenótoca e que, o número médio de larvas de *P. citrella* mortas por picadas alimentícias mostrou-se similar, ao longo de toda vida das fêmeas, independente da temperatura em que haviam sido mantidas.

O tempo médio de desenvolvimento não diferiu significativamente, tanto entre as fêmeas quanto entre os machos de *C. próximo a lyncus*, em três fotoperíodos (16L:8E; 12L:12E; 8L:16E), e foi de cerca de 17 dias para as fêmeas e 16, para os machos entretanto, entre os sexos a diferença não foi significativa (Urbaneja et al., 2001).

O ciclo biológico de *Cirrospilus vittatus* Walker (Hymenoptera: Eulophidae), tendo como hospedeiro larvas de *P. citrella*, foi observado por Urbaneja et al. (2002), que registraram sucesso em cinco temperaturas (15, 20, 25, 30 e 35 °C). Os autores verificaram que o tempo de desenvolvimento diminuía a medida que a temperatura aumentava de 15 para 30 °C, mas aumentava de 30

para 35 °C. Constataram ainda que, a 25 °C, o desenvolvimento médio de ovo a adulto foi de $14,75 \pm 0,28$ dias para fêmeas e $14,41 \pm 0,16$ dias para machos e a viabilidade média do ciclo ovo-adulto foi de 60,3%, considerando os dois sexos. Neste estudo, a fecundidade média, a 25 °C, foi de 39,17 ovos/fêmea e a taxa de oviposição flutuou ao redor de 5 ovos/dia, mostrando-se dependente da idade da fêmea, sendo crescente até o sexto dia. De acordo com os autores, o superparasitismo foi observado em 42,8% dos hospedeiros parasitados.

Aspectos biológicos e comportamentais dos eulofídeos, *Cirrospilus diallus* Walker e *Cirrospilus pictus* (Nees), tendo como hospedeiro *P. citrella*, foram observados por Lo Pinto et al. (2005), em câmara climatizada. Os autores verificaram, em ambas as espécies, partenogênese arrenótoca e uma longevidade média de $4,45 \pm 0,19$ dias, quando os adultos foram alimentados com açúcar, e de $40,62 \pm 1,97$ dias para os que receberam mel. A razão sexual dos parasitóides emergidos de larvas do hospedeiro de segundo e terceiro instares foi maior para os machos, enquanto que a razão sexual daqueles emergidos de larvas do quarto instar e de pupas foi maior para as fêmeas. Os autores atribuem esse resultado, ao fato dos hospedeiros de maior tamanho oferecerem maior quantidade de recurso, sendo os preferidos para gerar indivíduos do sexo feminino. O tempo médio de desenvolvimento de ovo-adulto, a 26 °C, foi de 18,1 e 17,8 dias, respectivamente, para machos e fêmeas de *C. diallus*. Já para machos e fêmeas de *C. pictus* a duração foi, respectivamente, de 11,4 e 11,7 dias. Em relação à mortalidade do hospedeiro, ambas as espécies realizaram mais mortes por predação (picadas alimentícias) e por paralisia (“prova de ovipositor”) do que pela oviposição em si (parasitismo).

A biologia do eulofídeo *Semielacher petiolatus* Girault foi acompanhada por Lim & Hoy (2005) em condições variáveis (temperatura entre 22 a 27 °C e umidade relativa do ar entre 45 a 60%) e fotofase de 16 horas. O tempo de desenvolvimento foi significativamente diferente entre os sexos (9,1 - 9,5 dias para as fêmeas e 8,4 - 8,7 dias para machos) a 25 °C, mas não foi afetado pela condição do hospedeiro, isto é, com parasitismo simples, superparasitado ou com picadas alimentícias mais ovos. Fêmeas de *S. petiolatus*, em média, iniciaram a alimentação sobre o hospedeiro 1,3 dia após a emergência e começaram a ovipositar 1,7 dias após terem se alimentado. Quando o superparasitismo ocorreu, os autores detectaram a emergência de apenas um parasitóide. Observaram, ainda, que fêmeas de *S. petiolatus* usavam, geralmente os hospedeiros de tamanho menor para se alimentar, os de tamanho médio somente para parasitar e os maiores tanto para alimentação quanto para o parasitismo. Os autores registraram, em média, 4,4 hospedeiros parasitados/fêmea/dia, 1,5 hospedeiros com apenas picadas alimentícias/fêmea/dia e 0,6 hospedeiros com picadas e parasitismo /fêmea/dia.

1.5.1 *Cirrospilus neotropicus*

Segundo Schauff et al. (1998), o gênero *Cirrospilus* é cosmopolita e inclui muitas espécies de parasitóides, hiperparasitóides facultativos e mais raramente, hiperparasitóides obrigatórios. Muitos dos hospedeiros de espécies desse gênero encontram-se protegidos pelo tecido da planta, como por exemplo, insetos minadores. Muitas das espécies são polífagas, existindo diversas referidas como ectoparasitóides de *P. citrella*, geralmente em instares já avançados de desenvolvimento.

Os ovos de *Cirrospilus* spp. podem ser depositados tanto nas minas como nas larvas e, embora mais de um ovo possa ser colocado, tem sido constatada a emergência de apenas um adulto (Clausen, 1940; Urbaneja, 2000). Segundo estes autores, as espécies deste gênero são idiobiontes e as fêmeas podem, além de parasitar o hospedeiro, realizar picadas alimentícias, comportamento que pode ser referido como predação e que, segundo Jervis & Kidd (1999), leva o hospedeiro sempre a morte.

Dentre as espécies desse gênero, *C. neotropicus*, inicialmente referida como *Cirrospilus* sp. C foi registrada em praticamente toda a América do Sul parasitando *P. citrella* (Schauff et al., 1998; Sá et al., 1999). Os primeiros registros desta espécie foram em Cuitlahuac e em Colima (México) no ano 1996 e em ambos havia sido referida como *Cirrospilus quadristriatus* (Subba Rao & Ramamani) (Bautista-Martinez et al., 1996; Perales-Gutiérrez et al., 1996). Entretanto, esta espécie veio a ser descrita como *C. neotropicus* apenas em 2003, por Diez & Fidalgo. Betancourt & Scattoni (2001) relatam que machos e fêmeas têm coloração predominante amarela e tamanho de até 3 mm de comprimento, sendo as fêmeas (Figura 1.2A), geralmente, maiores do que os machos. Conforme descrição de Diez & Fidalgo (2003), o comprimento médio do corpo das fêmeas de *C. neotropicus* é de 1,68 mm; enquanto que o dos machos varia de 0,7 a 1,25 mm. Os machos (Figura 1.2B) possuem uma listra bem definida de cor marrom escura no abdômen e a parte final deste arredondada. Já as fêmeas têm quatro listras marrons, bem definidas, e a parte final retangular, sendo o ovipositor parcialmente visível.

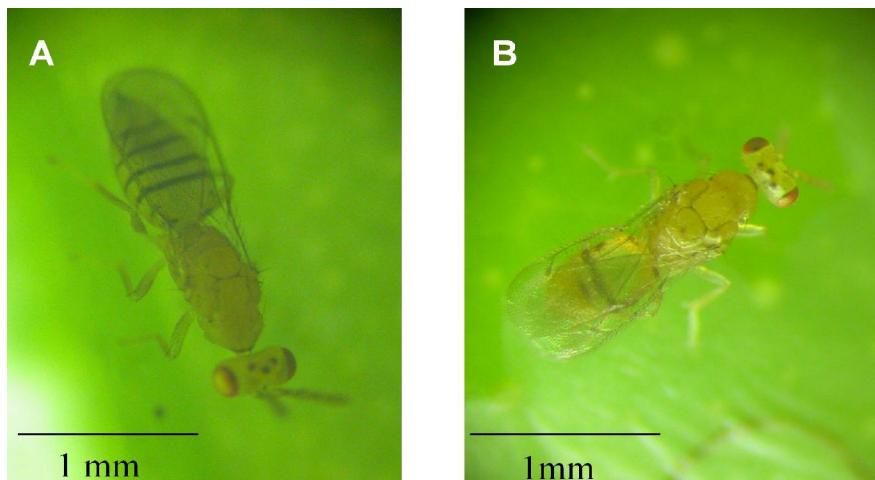


FIGURA 1.2 - (A) Fêmea e (B) macho de *Cirrospilus neotropicus* (Hymenoptera: Eulophidae).

No Rio Grande do Sul, *C. neotropicus* foi registrado em levantamentos de parasitóides nativos do minador-dos-citros em áreas de tangerineiras por Jahnke et al. (2005) e Efrom (2006). Em ambos os estudos, *C. neotropicus* destacou-se pelas freqüências de parasitismo. Jahnke et al. (2005) registraram 20 e 40%, respectivamente, em *Citrus deliciosa* e no tangoreiro ‘Murcott’, em 2002. Em 2003, estes autores constaram 10 e 15% em *C. deliciosa* e ‘Murcott’, respectivamente. Nos mesmos pomares estudados por Jahnke et al. (2005), Efrom (2006) encontrou, em 2004 apenas parasitismo por *C. neotropicus* em *C. deliciosa* numa freqüência de 6%. Em 2005, este autor constatou parasitismo de 7% e 15% para o tangoreiro ‘Murcott’ e *C. deliciosa*, respectivamente. Em ambos os estudos, as freqüências de parasitismo de *C. neotropicus* foram inferiores apenas para o parasitóide exótico *A. citricolla* que já havia sido liberado em pomar próximo da área de estudos para o controle do minador-dos-citros. O mesmo também foi observado na Argentina, em que *C. neotropicus* manteve um percentual de parasitismo baixo, porém significativo (19%) em *P. citrella*, sendo

inferior apenas ao registrado para *A. citricola* (54%) (Schauff et al., 1998, Diez et al., 2000).

Em relação a aspectos do biológico de *C. neotropicus* não foram encontrados registros na literatura e, tendo em vista que insetos criados por sucessivas gerações em laboratório podem perder a viabilidade e alterar o comportamento, procurou-se dirigir nesse sentido, os objetivos da presente pesquisa.

1.6 Objetivos

O presente trabalho teve como objetivo conhecer, em condições controladas de laboratório, aspectos do ciclo de vida de duas gerações *C. neotropicus*, uma proveniente de fêmeas cujas pupas foram coletadas em campo e outra oriunda de fêmeas que todo o desenvolvimento ocorreu em laboratório. Comparou-se as fases de ovo, larva, pupa e adulto, além dos comportamentos de parasitismo, superparasitismo e predação, tendo como hospedeiro *P. citrella*. Foram observados o tempo de desenvolvimento e a viabilidade das fases imaturas, a longevidade, a fertilidade, a fecundidade e a razão sexual da prole, aspectos estes importantes quando se deseja conhecer o potencial de um inimigo natural como um agente efetivo de controle biológico.

CAPÍTULO II

ASPECTOS BIOLÓGICOS DE *Cirrospilus neotropicus* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) SOB CONDIÇÕES CONTROLADAS

2.1 Introdução

Himenópteros parasitóides são insetos cujas larvas se desenvolvem no corpo de outros invertebrados, usualmente insetos, acarretando sempre a morte do hospedeiro ao final do desenvolvimento e na fase adulta apresentam vida livre (Quicke, 1997; Godfray, 1994). Estes organismos apresentam grande importância biológica e ecológica por participarem em mais de 50% das cadeias alimentares terrestres (LaSalle & Gauld, 1991). Em ecossistemas agrícolas, por sua vez, apresentam também importância econômica, por atuarem na regulação de populações de pragas (Godfray, 1994).

Diversos microimenópteros parasitóides, especialmente de Eulophidae, têm sido registrados atuando sobre populações de *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) (minador-dos-citros), espécie considerada praga dos citros, especialmente por facilitar a entrada da bactéria *Xanthomonas citri* pv. *citri*, causadora do cancro cítrico (Chagas et al., 2001).

Espécies de *Cirrospilus* (Hymenoptera: Eulophidae) têm sido referidas como ectoparasitóides de larvas do minador-dos-citros, em instares já

avançados de desenvolvimento (Schauff et al., 1998). Os ovos destes parasitóides podem ser depositados tanto na mina como na larva e, embora mais de um ovo possa ser colocado, tem sido constatada a emergência de apenas um adulto (Clausen, 1940; Urbaneja, 2000). Segundo Urbaneja (2000), as fêmeas de espécies pertencentes a este gênero possuem hábito idiobionte, ou seja, geralmente matam ao inserir o ovipositor no hospedeiro.

No Rio Grande do Sul, no município de Montenegro, levantamentos de parasitóides nativos do minador-dos-citros foram realizados em áreas de tangerineiras por Jahnke et al. (2005) e Efrom et al. (2007). Em ambos os estudos *Cirrospilus neotropicus* Diez & Fidalgo foi a espécie nativa mais freqüente, inferior apenas à do parasitóide exótico *Ageniaspis citricolla* Logvinovskaya (Hymenoptera: Encyrtidae), que já havia sido liberado em pomar próximo das áreas de estudo. Apesar de *C. neotropicus* ter sido registrado pela primeira vez nas regiões de Cuitlahuac e Colima (México) no ano 1996, em ambos citados como *Cirrospilus quadristriatus* (Suba Rao & Ramamani) por Bautista-Martinez et al. (1996) e Perales-Gutiérrez et al. (1996) sua descrição foi feita somente em 2003 (Diez & Fidalgo, 2003).

Cirrospilus neotropicus apresenta uma coloração predominantemente amarela no corpo, tendo, em geral, comprimento diminuto, no máximo 3 mm, sendo as fêmeas comumente maiores que os machos (Betancourt & Scatoni, 2001). Pode-se diferenciar os sexos através de listras de cor marrom no abdômen: as fêmeas possuem quatro bem definidas e os machos, apenas uma. A extremidade do abdômen da fêmea é mais triangular, sendo visível o ovipositor. Já nos machos, a parte final do abdômen é mais arredondada (Diez & Fidalgo, 2003).

Até o presente não existem relatos do ciclo biológico dessa espécie de parasitóide. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar e comparar aspectos biológicos de fêmeas e imaturos de *C. neotropicus* de duas diferentes gerações sob condições controladas.

2. 2 Material e métodos

Neste trabalho foi utilizada para a criação de *P. citrella* uma câmara climatizada (25 ± 1 °C, $65 \pm 10\%$ UR; fotofase 12 horas) e nos experimentos com *C. neotropicus*, uma estufa climatizada (25 ± 1 °C; fotofase 12 horas), ambas instalados no Laboratório de Biologia, Ecologia e Controle Biológico de Insetos (BIOECOLAB), do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em Porto Alegre.

2.2.1 Criação de *Phyllocnistis citrella*

Brotos de citros de diversas cultivares com câmaras pupais de *P. citrella* foram coletados na Estação Experimental Agronômica (EEA) da UFRGS, Eldorado do Sul, RS ($30^{\circ}29'S$, $51^{\circ}06'W$) e trazidos para o laboratório, onde foram acondicionados em potes (25 x 15 cm) contendo no fundo papel filtro umedecido (Figura 2.1A) e mantidos em câmara climatizada até a emergência dos minadores, com os quais se estabeleceu uma criação baseada no modelo desenvolvido por Parra et al. (2002).

Os adultos de *P. citrella* emergidos em laboratório (Figura 2.1B) foram introduzidos em gaiolas de reprodução e postura (Figura 2.1C) com armação de madeira e forradas com tecido tipo voile (50 x 45 x 60 cm), que continham 48 mudas de limoeiro 'Cravo' (*Citrus limonia* Osb.) em tubetes, com brotações (folhas com 3 a 5 cm de comprimento) (Figura 2.1D), na proporção de um inseto para cada três plantas, conforme proposto por Chagas & Parra (2000).

Nestas condições, as mudas permaneciam por três a quatro dias com os adultos e após este período procedia-se a troca das mesmas e as que continham posturas eram retiradas, dispostas em grades, irrigadas diariamente e mantidas na mesma câmara climatizada. Quando as larvas atingiam um comprimento de 2 a 4 mm, característico do terceiro instar (Cônsoli, 1996; Lim & Hoy, 2005) (Figura 2.1E), parte delas era utilizada na criação do parasitóide (*C. neotropicus*) e a outra permanecia nas mudas até a formação das pupas, quando as folhas eram recolhidas. As câmaras pupais foram recortadas das folhas e acondicionadas em tubos de vidro (10 x 35 mm) (Figura. 2.1F), contendo algodão umedecido no fundo e fechados com filme plástico.

Os adultos emergidos nos tubos de vidro foram alimentados com gotículas de mel e pólen macerado através do filme plástico e transferidos para as gaiolas de reprodução para manutenção da criação de *P. citrella*.

2.2.2 Criação de *Cirrospilus neotropicus*

Uma criação em laboratório foi estabelecida com parte dos adultos de *C. neotropicus* emergidos das câmaras pupais de *P. citrella* coletadas na EEA e acondicionados em potes (25 x 15 cm) contendo no fundo papel filtro umedecido (Figuras 2.2A e B). Logo após a emergência, os parasitóides eram transferidos, na proporção de cinco machos para uma fêmea de *C. neotropicus*, para tubos de vidro (Figura 2.2C) (3 x 10 cm) com algodão umedecido no fundo e, alimentados com mel e pólen macerado. Os recipientes eram fechados com filme PVC e mantidos na estufa climatizada por cinco dias, conforme método descrito por Urbaneja (2000).

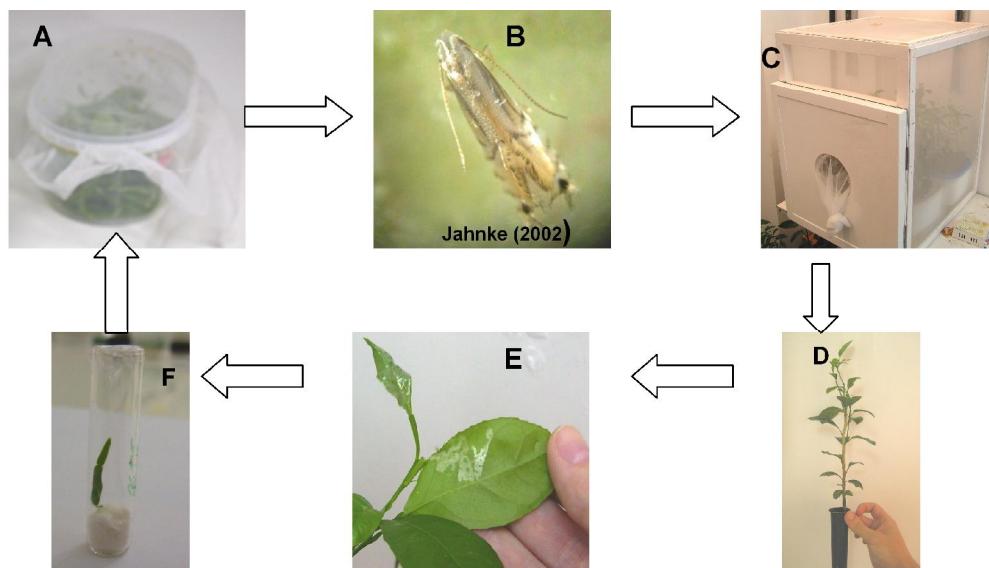


FIGURA 2.1 – Fluxograma da criação de *Phyllocnistis citrella* em câmara climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; $65 \pm 10\%$ UR; fotofase 12 horas). (A) Pote com folhas de citros com câmaras pupais; (B) Adulito de *P. citrella*; (C) Gaiola de acasalamento de *P. citrella*; (D) Muda de limoeiro 'Cravo' em tubete; (E) Broto com minas de larvas de 3º instar de *P. citrella*; (F) Tubo de vidro com câmara pupal de *P. citrella*.

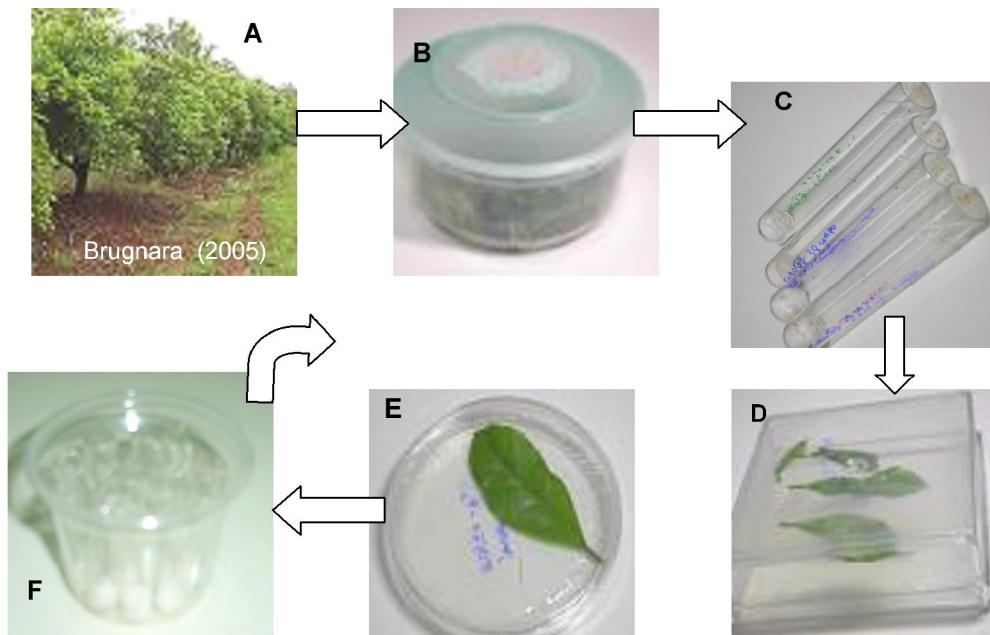


FIGURA 2.2 – Fluxograma da criação de *Cirrospilus neotropicus* em estufa climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; fotofase 12 horas). (A) Pomar de citros na Estação Experimental Agronômica da UFRGS; (B) Pote com folhas de citros contendo câmaras pupais de *Phyllocnistis citrella*; (C) Tubos utilizados para acasalamento; (D) Caixa Gerbox contendo meio AA 2% e folhas de citros com larvas de *P. citrella*; (E) Placa de Petri com uma folha de citros com larva de *P. citrella* parasitada; (F) Tubos de vidro para manutenção de adultos de *C. neotropicus*.

Decorridos os cinco dias, as fêmeas eram transferidas para caixas gerbox (12 x 12 x 3 cm) (Figura 2.2D) contendo folhas de citros com larvas de *P. citrella* de terceiro instar provenientes da criação e meio ágar-água (AA) a 2% no fundo, para manter a turgidez das folhas. A cada dois dias, novas larvas eram oferecidas para as fêmeas de *C. neotropicus*. As folhas recolhidas eram observadas em estereomicroscópio e aquelas que continham ovos dos parasitóides, eram colocadas em placas de Petri (10 x 1,5 cm) (Figura 2.2E) com meio AA2% para garantir a turgidez das folhas durante o desenvolvimento dos parasitóides. Parte dos parasitóides emergidos foi utilizada para a manutenção da criação e o restante nos experimentos de biologia.

2.2.3 Biologia de *Cirrospilus neotropicus*

Vinte e três fêmeas de *C. neotropicus* provenientes do campo e 22 oriundas da primeira geração de laboratório foram acasaladas conforme descrito no item 2.2.2.

Após este período, as fêmeas foram individualizadas nas condições descritas anteriormente (item 2.2.2) para a obtenção de posturas. As folhas retiradas eram observadas em estereomicroscópio, registrando-se o número de ovos depositados e o de picadas alimentícias realizadas em cada hospedeiro. As fêmeas foram mantidas nestas condições até a morte, sendo determinada também a longevidade das mesmas. A partir do registro desses dados foram determinadas a fertilidade, fecundidade, taxa de oviposição e de picadas alimentícias diárias em cada um dos grupos avaliados.

Após a constatação do parasitismo, as folhas com larvas de *P. citrella* eram transferidas individualmente para placas de Petri (10 x 1,5 cm) com meio AA 2% e mantidas em estufa climatizada. Avaliava-se também as condições do

hospedeiro parasitado (parasitismo simples ou superparasitismo, com e sem picadas alimentícias).

Diariamente, até a fase de pupa, registrava-se o número de larvas de parasitóides eclodidas, o número de indivíduos mortos e o de pupas formadas, de modo a estimar o tempo de desenvolvimento e a viabilidade das diferentes fases imaturas. Também foram registrados alguns aspectos morfológicos e comportamentais.

O tempo de desenvolvimento de ovo-adulto e a viabilidade foram acompanhados na prole proveniente da geração de campo em 22 fêmeas e 277 machos e na prole da geração de laboratório em 46 fêmeas e 98 machos. Nestes registros levou-se em conta a condição do hospedeiro (parasitismo simples ou superparasitismo, com e sem picadas alimentícias).

Após a emergência, os parasitóides foram sexados e transferidos para frascos de vidro (10 x 35 mm), com fundo achatado, fechados com filme plástico e mantidos na mesma estufa climatizada com alimento (mel e pólen macerado). A razão sexual da prole foi calculada conforme Silveira Neto et al. (1976) e testada em relação à idade das fêmeas.

Uma vez que os registros da oviposição eram feitos em intervalos de 48 horas, muitas vezes, na primeira observação, já eram constatadas larvas. Assim, o desenvolvimento embrionário foi registrado a partir de posturas efetuadas por apenas nove fêmeas, todas da geração de campo. Para tanto, as fêmeas foram mantidas nas mesmas condições descritas no item 2.2.2. Os hospedeiros oferecidos às fêmeas eram observados três vezes, ao longo da fotofase, em intervalos de 6 horas. Toda vez que se registrava a presença de um ovo, o hospedeiro era individualizado em placa de Petri (10 x 1,5 cm) contendo meio AA

2% e observado no mesmo intervalo, até a eclosão. Foram avaliados no total 120 ovos obtendo-se dados mais precisos do período de incubação.

A longevidade foi avaliada em fêmeas acasaladas das gerações de campo e laboratório, mantidas nas condições descritas anteriormente.

Em machos acasalados, a longevidade foi avaliada apenas em indivíduos de mesma idade, provenientes da geração de laboratório (15), que, após o período de acasalamento, eram individualizados em frascos de vidro (10 x 35 mm) (Figura 2.2F), contendo algodão umedecido no fundo, fechados com filme plástico e mantidos em estufa climatizada, recebendo mel e pólen macerado como alimento.

A longevidade também foi observada em 10 fêmeas provenientes de campo e 49 de laboratório e 10 machos de geração de campo e 36 de laboratório não acasalados que foram mantidos individualizados, nas mesmas condições dos acasalados.

Todos os dados foram testados quanto à normalidade pelos testes Shapiro-Wilk e D'Agostino. Os dados com distribuição normal foram submetidos à análise de variância (Anova um critério). Os dados que não se ajustaram à curva normal foram transformados para logaritmo natural (Ln) e permanecendo a ausência de normalidade, foi realizada análise de variância Kruskal-Wallis. A correlação entre os dados foi calculada por Pearson. A proporção entre os sexos foi comparada pelo teste χ^2 de comparação de proporções. O nível de significância adotado foi ($\alpha= 0,05$).

As análises numéricas foram feitas pelo programas BioEstat® 4.0 e Microsoft Office Excel® 2000.

2.3 Resultados e Discussão

2.3.1 Desenvolvimento das fases imaturas

As fêmeas de *C. neotropicus*, sendo ectoparasitóides, depositam seus ovos externamente ao corpo do hospedeiro (Figura 2.3A). Esses ovos possuem aspecto cilíndrico ou reniforme e coloração esbranquiçada ou aspecto hialino (Figura 2.3B). Ovos de *Cirrospilus* próximo a *Iyncus* Walker são semelhantes, conforme descrição feita por Urbaneja (2000).

No presente trabalho, os ovos geralmente eram depositados em contato com a larva do minador, mas, alguns, eram colocados distantes até 5 mm, fazendo com que a larva de *C. neotropicus* tivesse que ir em busca do hospedeiro. Embora Godfray (1994) comente que a busca do hospedeiro por larvas de Chalcidoidea seja incomum, diversos autores registraram este comportamento em eulofídeos (Lo Pinto, 1997; Lim & Hoy, 2005; Lo Pinto et al., 2005). Estudando a etologia de *Ratzeburgiola incompleta* Boucek, ectoparasitóide de *P. citrella*, Lo Pinto (1997) observou que o comportamento mais comum foi a oviposição junto ao corpo do hospedeiro, apesar da larva conseguir encontrá-lo caso o ovo fosse depositado afastado. Em 21,55% de fêmeas de *Cirrospilus pictus* (Ness) e de *Cirrospilus diallus* Walker, Lo Pinto et al. (2005) registraram que os ovos foram depositados até 6 mm de distância do hospedeiro paralisado (*P. citrella*), sendo que as larvas eclodidas foram capazes de se moverem em direção a ele e atacá-lo.

Logo após a eclosão, a larva apresenta aspecto hialino e tamanho diminuto (menores que 0,3 mm) semelhante ao ovo (Figura 2.4A), características também observadas por Urbaneja (2000) para *C. próximo a Iyncus*. Segundo o autor, estas larvas são típicas de ectoparasitóides de Chalcidoidea e se

locomovem com rapidez favorecendo o encontro com o hospedeiro paralisado, caso esse esteja um pouco distante.

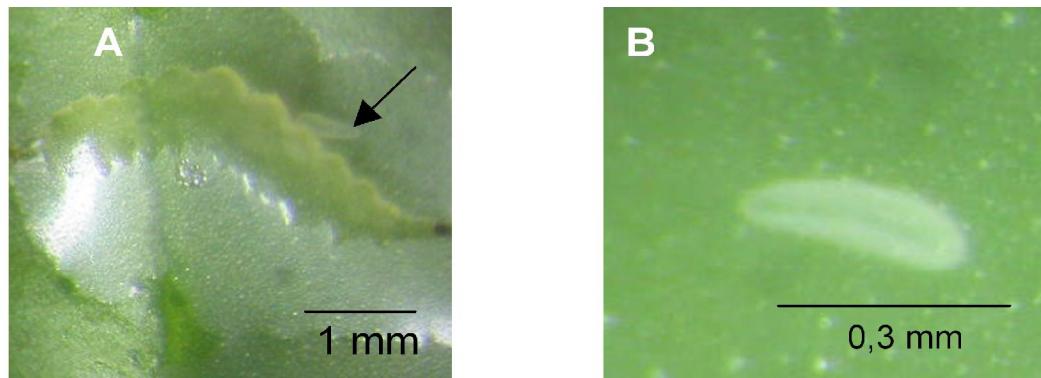


FIGURA 2.3 – (A) Larva de *Phyllocnistis citrella* com um ovo de *Cirrospilus neotropicus*; (B) Ovo de *C. neotropicus*.

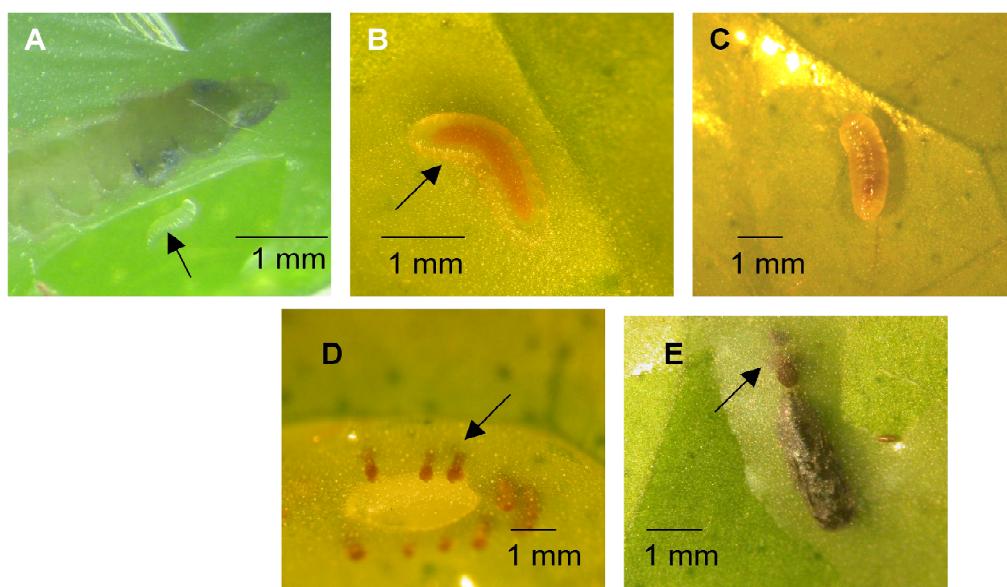


FIGURA 2.4 - (A) Larva de *Cirrospilus neotropicus* recém-eclodida; (B) Larva de *C. neotropicus*; (C) Larva de *C. neotropicus* no máximo do seu desenvolvimento. (D) Pré-pupa de *C. neotropicus* com mecônio liberado em colunas; (E) Pupa de *C. neotropicus* com mecônio liberado numa única porção.

A larva inicia a alimentação no corpo do hospedeiro logo após a eclosão e o encontro do hospedeiro. Ao longo do seu desenvolvimento, o ponto onde esta ocorre pode variar, tendo em vista que a larva é livre e móvel. Por ter o corpo hialino, pode-se observar o canal alimentar da larva, que ocupa todo o corpo (Figura 2.4B), o qual se contrai ritmicamente durante o processo de alimentação.

Ao alcançar o desenvolvimento máximo (Figura 2.4C), a larva de *C. neotropicus* cessa sua alimentação, sendo observado algumas vezes um afastamento do hospedeiro e, posteriormente, a liberação do mecônio, passando em seguida à pré-pupa. Mecônio, segundo Buzzi (2003) é definido como uma substância defecada por um inseto antes da pupação. O afastamento do hospedeiro também foi registrado para os eulofídeos *R. incompleta* (Lo Pinto, 1997) e *C. pictus* e *C. diallus*, por Lo Pinto et al. (2005). Em relação à liberação do mecônio, Urbaneja (2000) observou em *C. próx. a lyncus*, que a expulsão deste material pode se dar de diversas formas: em apenas uma porção ou em várias porções, em forma de pequenas colunas (2 a 12) ao longo do corpo, ambas também observadas no presente trabalho (Figura 2.4D). Lo Pinto (1997) observou que a expulsão do mecônio em *R. incompleta* ocorreu sempre em apenas uma porção. Já Lo Pinto et al. (2005) registraram a liberação de mecônio em *C. pictus*, como porções fecais (três a seis pequenas colunas ao redor de seu corpo), sendo que a larva posicionava seu mecônio através de movimentos rotatórios de seu gáster. Segundo Viggiani (1964), a distribuição do mecônio em pequenos montes, também observada em outros eulofídeos, é feita com o intuito de prevenir o colapso da mina do hospedeiro caso o volume do mecônio, numa porção única, fosse liberado, o que poderia causar o ressecamento da pré-pupa ou da pupa.

A pupa de *C. neotropicus* (Figura 2.4E) é do tipo livre, sendo que quando recém-formada, apresenta coloração branca, passando a preta em menos de 12 horas. Estas mudanças externas de coloração foram também registradas para eulofídeos parasitóides de *P. citrella* (Lo Pinto, 1997; Urbaneja, 2000; Lo Pinto et al., 2005).

2.3.2 Duração e viabilidade das fases de ovo, larva e pupa

O período médio de incubação observado a cada 6 horas em 120 ovos provenientes de fêmeas da geração de campo, foi de $1,08 \pm 0,03$ dias, desconsiderando-se o sexo da prole.

A duração da fase larval foi em média de 4,4 dias, não diferindo entre os sexos e indivíduos da prole das duas gerações (Tabela 2.1).

TABELA 2.1 - Duração média (dias) \pm EP das fases de ovo, larva, pupa e do ciclo biológico de machos e fêmeas de *Cirrospilus neotropicus* das proles provenientes de fêmeas da geração de campo e de laboratório, criados sobre *Phyllocnistis citrella* (25 ± 1 °C; fotofase 12 horas).

Prole	Sexo	Fases de desenvolvimento			
		Ovo	Larva	Pupa	Total
Campo	fêmea	$1,02 \pm 0,05$	$4,43 \pm 0,17$	$6,31 \pm 0,22$ a A	$11,76 \pm 0,23$ a A
	macho	$1,0 \pm 0,02$	$4,38 \pm 0,07$	$5,19 \pm 0,218$ b B	$10,57 \pm 0,22$ b B
	fêmea	$1,0 \pm 0,076$	$4,52 \pm 0,34$	$6,04 \pm 0,34$ a A	$11,56 \pm 0,197$ a A
Laboratório	macho	$1,0 \pm 0,017$	$4,34 \pm 0,07$	$5,63 \pm 0,26$ b A	$10,97 \pm 0,095$ b A

Médias seguidas, nas colunas, de mesma letra minúscula, comparações entre os sexos numa mesma geração e de mesma letra maiúscula, comparações de um mesmo sexo entre gerações, não diferem entre si ao nível de significância de ($P < 0,05$).

A duração média do período pupal de fêmeas provindas da geração do campo foi de 6,31 dias e de machos 5,19 dias, diferindo significativamente entre si ($H = 20,54$; $gl = 1$; $P = 0,001$). O mesmo foi observado entre os sexos nos indivíduos provenientes da geração de laboratório que foram de 6,04 dias para fêmeas e de 5,63 dias para machos ($H = 4,033$; $gl = 1$; $P = 0,0446$) (Tabela 2.1).

A duração média do desenvolvimento de ovo a adulto foi de 10,97 dias (máximo 14, mínimo sete dias) para machos da geração de laboratório enquanto que para os do campo foi de 10,57 dias (máximo 14, mínimo sete dias) (Tabela 2.1), sendo a diferença significativa ($H = 5,05$; $gl = 1$; $P = 0,03$). Para fêmeas geradas a partir do grupo oriundo do campo, a duração média do ciclo de ovo a adulto foi de 11,76 dias (máximo 14, mínimo nove dias) e de 11,56 dias (máximo 16, mínimo nove dias) para as fêmeas do grupo de laboratório, não diferindo significativamente ($H = 3,29$; $gl = 1$; $P = 0,07$). O tempo de desenvolvimento de ovo a adulto foi superior tanto nas fêmeas da geração de campo ($H = 14,003$; $gl = 1$; $P = 0,0002$) quanto nas de laboratório ($H = 4,26$; $gl = 1$; $P = 0,04$) em relação aos machos de suas respectivas gerações.

O desenvolvimento mais lento das fêmeas segundo Godfray (1994), pode estar relacionado ao maior acúmulo de reservas e ao fato de serem geralmente maiores que os machos.

Lo Pinto (1997) observou para *R. incompleta* sobre larvas de *P. citrella*, um desenvolvimento do ciclo total (incluindo machos e fêmeas) de $12,4 \pm 0,58$ dias na temperatura de 23 °C. O fato de *C. neotropicus* no presente estudo ter se desenvolvido em menor tempo, pode estar relacionado à temperatura mais elevada utilizada no presente experimento.

O ciclo biológico (ovo-adulto) de *C. próx. a lyncus* a 25 °C em larvas de *P. citrella*, foi de $11,58 \pm 0,37$ dias para machos e de $11,83 \pm 0,56$ para fêmeas (Urbaneja et al., 2000). Os autores não encontraram diferenças significativas entre os sexos.

Urbaneja et al. (2002) observaram, a 25 °C que a duração do ciclo biológico de *C. vittatus*, sobre *P. citrella* criado em *Citrus aurantium* L., foi de

$14,41 \pm 0,16$ dias para machos sendo significantemente distinto do de fêmeas, $14,75 \pm 0,28$ dias. Diferença significativa entre os sexos também foi encontrada para a duração do ciclo biológico de *C. neotropicus*; contudo, este foi inferior ao de *C. vittatus*.

Bazzocchi et al. (2003) registraram que o tempo de desenvolvimento de ovo a adulto do eulofídeo *Diglyphus isaea* (Walker), a 25°C , em *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard) (Diptera: Agromyzidae) foi de $10,1 \pm 0,2$ dias para machos e de $10,9 \pm 0,1$ dias para fêmeas, sendo a diferença entre os sexos significativa. Os mesmos autores, avaliando o ciclo deste parasitóide em *Liriomyza trifolii* (Burgess), verificaram uma duração de $10 \pm 0,2$ dias para machos e de $10,5 \pm 0,1$ para fêmeas, diferença esta também significativa. Entretanto, comparando a duração do ciclo entre as espécies, esta não diferiu. Os resultados obtidos por estes autores corroboram os dados registrados que indicam um desenvolvimento mais lento das fêmeas de Eulophidae.

Lo Pinto et al. (2005) observaram, a 26°C , uma duração média do ciclo biológico de 18,1 dias para machos e 17,8 dias para fêmeas de *C. diallus* e de 11,4 e 11,7 dias para machos e fêmeas, respectivamente, de *C. pictus*. Ambas espécies criadas sobre larvas de *P. citrella* em *Citrus aurantium*. Foram registradas diferenças apenas entre as espécies.

Por outro lado, a duração das fases imaturas, também pode ser influenciada pela origem da fêmea progenitora (Godfray, 1994). Essas diferenças seriam em resposta a condições distintas de fatores bióticos e abióticos encontradas em campo ou em confinamento (Parra et al., 2002).

O tempo de desenvolvimento de machos provenientes de fêmeas da geração de campo, em hospedeiros com parasitismo simples, foi

significativamente menor que o restante da prole nesta condição ($H = 19,02$; $gl = 1$; $P < 0,01$) (Tabela 2.2).

TABELA 2.2 - Duração média (dias) \pm EP das fases de ovo, larva, pupa e do ciclo biológico de machos e fêmeas de *Cirrospilus neotropicus* das proles provenientes de fêmeas da geração de campo e de laboratório, criados sobre larvas de *Phyllocoptes citrella* apresentando superparasitismo ou parasitismo simples ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; fotofase 12 horas).

Prole	Parasitismo	n	Sexo	Ovo	Larva	Pupa	Total
Campo	Super	2	♀	1,0 \pm 0,0	4,0 \pm 0,00	6,0 \pm 0,0	11,08 \pm 0,01 a
		53	♂	1,09 \pm 0,142	4,72 \pm 0,217	5,44 \pm 0,209	11,25 \pm 0,405 a
	Simples	13	♀	1,0 \pm 0,03	4,43 \pm 0,168	6,36 \pm 0,24	11,79 \pm 0,31 a
		203	♂	1,00 \pm 0,00	4,28 \pm 0,179	5,13 \pm 0,237	10,41 \pm 1,07 b
Laboratório	Super	2	♀	1,0 \pm 0,0	4,09 \pm 0,226	6,5 \pm 0,15	11,59 \pm 0,15 A
		3	♂	1,0 \pm 0,0	3,71 \pm 0,169	7,00 \pm 0,0	11,71 \pm 0,33 A
	Simples	42	♀	1,0 \pm 0,02	4,51 \pm 0,210	6,00 \pm 0,18	11,51 \pm 0,26 A
		93	♂	1,02 \pm 0,05	4,64 \pm 0,209	5,61 \pm 0,23	11,27 \pm 0,23 A

Médias seguidas na coluna de mesma letra minúscula não diferem significativamente ($\alpha=0,05$) para prole proveniente da geração do campo e, mesma letra maiúscula, para prole provinda da geração de laboratório.

Embora diversos autores (Godfray, 1994; Jervis & Kidd, 1996; Lim & Hoy, 2005), tenham relatado que hospedeiros com picadas alimentícias podem perder qualidades nutricionais afetando o desenvolvimento do parasitóide imaturo pela redução dos recursos. No presente estudo, apenas machos provenientes de fêmeas da geração de campo, que se desenvolveram em hospedeiros com picadas alimentícias, apresentaram tempo de desenvolvimento significativamente menor que o restante da prole nesta condição ($H = 8,538$; $gl = 1$; $P = 0,003$) (Tabela 2.3).

O ciclo biológico total nos outros grupos de imaturos não diferiu, talvez devido ao fato dos hospedeiros escolhidos pelas fêmeas para realizar picadas alimentícias e oviposição simultaneamente, serem maiores (Tabela 2.3). Embora,

neste trabalho não se tenha medido o tamanho do hospedeiro, Lim & Hoy (2005) efetuaram estudos sobre a biologia de *Semielacher petiolatus* Girault e observaram que em larvas hospedeiras de terceiro instar de maior comprimento, a fêmea e o imaturo conseguiram se alimentar e se desenvolver sem prejuízos. Estes autores registraram que o tempo de desenvolvimento total desse parasitóide foi de $9,5 \pm 0,7$ dias para fêmeas e $8,5 \pm 0,7$ para machos criados em hospedeiros com parasitismo simples; de $9,1 \pm 0,5$ para fêmeas e $8,4 \pm 0,8$ para machos que tiveram como hospedeiros larvas superparasitadas e de $9,4 \pm 0,6$ para fêmeas e $8,7 \pm 0,9$ para machos que tiveram hospedeiros com picadas alimentícias sem, entretanto encontrar diferenças significativas nestes valores.

TABELA 2.3 – Duração média (dias) \pm EP das fases de ovo, larva, pupa e do ciclo biológico de machos e fêmeas de *Cirrospilus neotropicus* das proles provenientes de fêmeas da geração de campo e de laboratório, criados sobre larvas de *Phyllocnistis citrella* com e sem picadas alimentícias (25 ± 1 °C; fotofase 12 horas).

Prole	Condição	n	Sexo	Ovo	Larva	Pupa	Total
Campo	c/picadas	8	♀	$1,0 \pm 0,0$	$4,38 \pm 0,171$	$6,00 \pm 0,255$	$11,38 \pm 0,358$ a
		107	♂	$1,0 \pm 0,08$	$4,18 \pm 0,148$	$4,79 \pm 0,218$	$9,97 \pm 0,655$ b
	s/ picadas	5	♀	$1,0 \pm 0,05$	$4,3 \pm 0,14$	$5,00 \pm 0,21$	$10,3 \pm 0,31$ a
		96	♂	$0,98 \pm 0,032$	$4,27 \pm 0,22$	$5,39 \pm 0,262$	$10,64 \pm 0,725$ a
Laboratório	c/picadas	13	♀	$1,0 \pm 0,05$	$4,56 \pm 0,281$	$6,0 \pm 0,19$	$11,56 \pm 0,36$ A
		39	♂	$1,0 \pm 0,03$	$4,14 \pm 0,169$	$5,87 \pm 0,32$	$11,01 \pm 0,31$ A
	s/ picadas	29	♀	$1,0 \pm 0,09$	$4,53 \pm 0,15$	$6,13 \pm 0,369$	$11,66 \pm 0,433$ A
		54	♂	$1,0 \pm 0,01$	$4,17 \pm 0,15$	$5,50 \pm 0,23$	$10,67 \pm 0,24$ A

Médias seguidas, na coluna, de mesma letra minúscula não diferem significativamente ($\alpha=0,05$) para prole proveniente da geração do campo e, seguidas de mesma letra maiúscula, para prole provinda da geração de laboratório.

Comparando-se a duração média de desenvolvimento total, a 25 °C, do hospedeiro em relação à de *C. neotropicus*, observa-se que o minador-dos-citros demora, em média, 16,5 dias para se tornar adulto (Chagas & Parra, 2000)

enquanto que o parasitóide leva, em média, $10,78 \pm 0,223$ dias. Ou seja, ao longo do ciclo de ovo a adulto de *P. citrella* é possível o desenvolvimento de um ciclo e meio de *C. neotropicus* o que é favorável sob o ponto de vista do controle biológico. Conhecendo-se esses dados poderia-se inclusive planejar melhor programas de controle biológico do minador-dos-citros com esse parasitóide.

A viabilidade média das fases imaturas das proles de *C. neotropicus*, não apresentou diferenças significativas às duas gerações estudadas. Considerando as diferentes fases, observou-se que a menor viabilidade foi registrada na larval (Tabela 2.4). O mesmo foi encontrado para *C. vittatus* mantido a 25° e fotofase de 16 horas por Urbaneja et al. (2002) que registraram viabilidade de 92,1% para a fase de ovo, 77,8% para a larval, e 84,7% para a pupal. Considerando o ciclo de ovo a adulto, estes autores constataram uma viabilidade de 60,3%.

Cirrospilus próximo a *lynCUS* criado em *P. citrella* em *C. aurantium*, apresentou viabilidade semelhante para a fase de ovo (93,9%), em relação às duas espécies anteriores, e, superior, nas fases larval (93,6%), pupal (100%) e total (87,9%) (Urbaneja, 2000).

TABELA 2.4 – Viabilidade média (%) \pm EP das fases imaturas das proles das fêmeas de *Cirrospilus neotropicus* da geração de campo e da de laboratório desenvolvidas em *Phyllocnistis citrella* (25 ± 1 $^\circ\text{C}$; fotofase 12 horas).

Prole	Ovo	Larva	Pupa	Total
Campo	$98,53 \pm 0,041$	$57,31 \pm 0,049$	$91,44 \pm 0,166$	$47,32 \pm 0,0386$
Laboratório	$94,78 \pm 0,021$	$57,37 \pm 0,048$	$71,23 \pm 0,043$	$43,38 \pm 0,04$

As diferenças na viabilidade registradas entre o presente estudo e os anteriormente citados podem estar associadas, entre outras causas, ao fato do hospedeiro (*P. citrella*) ter sido criado em *C. limonia*, que apresenta folhas menores do que *C. aurantium*, laranjeira-azeda, substrato sobre o qual foram criados os hospedeiros oferecidos para *C. próx.* a *lynCUS* e *C. vittatus* (Urbaneja, 2000; Urbaneja et al., 2002). Além das espécies distintas de plantas hospedeiras, Urbaneja (2000) e Urbaneja et al. (2002), utilizaram mudas de um ano de idade, com altura de cerca de 50 a 60 cm acondicionadas em vasos, diferentemente do presente estudo, no qual as mudas tinham em torno de meio ano de idade, cerca de 25 cm de altura e estavam em tubetes. Estes fatores podem ter influenciado no tamanho dos brotos oferecidos para o minador-dos-citros, visto que mudas maiores apresentam brotação mais vigorosa e consequentemente folhas de maior tamanho, podendo propiciar maior abundância de recursos para o desenvolvimento deste (Heppner, 1993; Milano, 2002). Segundo Godfray (1994) e Parra et al. (2002), a menor quantidade de recursos oferecidos pelas plantas onde os hospedeiros se desenvolvem, podem resultar em maior mortalidade das fases imaturas dos parasitóides.

Comparando-se a viabilidade da prole gerada entre as duas gerações constataram-se sempre valores superiores para de campo, tanto em hospedeiros superparasitados ($47,15 \pm 6,731\%$, campo e $28,19 \pm 6,801\%$ laboratório; $P=0,0001$) quanto com parasitismo simples ($50,55 \pm 4,148\%$, campo e $34,03 \pm 4,944\%$, laboratório; $P=0,0192$) (Tabela 2.5).

Para a prole de ambas as gerações de *C. neotropicus*, observou-se na Tabela 2.5 que, em condição supostamente adversa, como a de hospedeiros com picadas alimentícias, que tem seus recursos reduzidos, a viabilidade não diferiu.

TABELA 2.5 – Viabilidade média (%) \pm EP das fases imaturas das proles das fêmeas de *Cirrospilus neotropicus* da geração de campo e da de laboratório desenvolvidas em diferentes condições de *Phyllocnistis citrella* (25 ± 1 °C; fotofase 12 horas).

Condição do hospedeiro	Viabilidade total (%) da prole	
	Campo	Laboratório
superparasitado	$47,15 \pm 6,731$ a	$28,19 \pm 6,801$ b
parasitado simples	$50,55 \pm 5,148$ a	$34,03 \pm 4,944$ b
com picada	$41,97 \pm 6,262$ a	$35,61 \pm 4,146$ a
sem picada	$51,7 \pm 6,763$ a	$47,5 \pm 5,843$ a

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem significativamente ($\alpha = 0,05$).

2.3.3 Longevidade, progênie idade-dependente e razão sexual

A longevidade média das fêmeas acasaladas de *C. neotropicus* da geração de laboratório diferiu significantemente ($F = 4,19$; $gl = 1$; $P = 0,04$) da constatada para as provindas do campo, sendo estas últimas, em média, mais longevas (Tabela 2.6). Já entre as fêmeas não acasaladas, de ambas as gerações, a longevidade média não diferiu ($F = 2,81$; $gl = 1$; $P = 0,095$).

Considerando a geração de campo e comparando-se a longevidade em fêmeas, registrou-se valor médio superior, para as acasaladas (Tabela 2.6). Em relação à geração de laboratório, comparando-se a longevidade em indivíduos de um mesmo sexo, verificou-se valor médio e superior, apenas para os machos acasalados (Tabela 2.6). Estas diferenças, no entanto, não nos permitem tirar conclusões, pois podem não estar relacionadas unicamente à condição de acasalado e não acasalado, tendo em vista que fêmeas e machos de *C. neotropicus* não acasalados, foram mantidos ao longo da vida em condições diferentes.

TABELA 2.6 - Longevidade média (dias) \pm EP de machos e fêmeas de *Cirrospilus neotropicus* das gerações de campo e de laboratório acasalados e não acasalados (25 ± 1 °C; fotofase 12 horas).

Sexo	Condição	Campo		Laboratório	
		n	Média \pm EP	n	Média \pm EP
♂	Acasalado	-	-	15	$33,4 \pm 4,17$
	Não acasalado	12	$17,92 \pm 6,61$	36	$11,24 \pm 1,67$
♀	Acasalada	23	$21,78 \pm 1,884$ A	22	$16,76 \pm 1,56$ B
	Não acasalada	10	$9,1 \pm 2,01$	49	$14,18 \pm 1,28$

Médias seguidas nas linhas de mesma letra maiúscula, comparações entre gerações para a mesma condição, não diferem significativamente ($\alpha = 0,05$).

De um modo geral, no presente estudo os indivíduos acasalados de ambas as gerações evidenciaram longevidade média superior aos não acasalados (Tabela 2.6). Especialmente para as fêmeas, a presença do hospedeiro por todo o período de vida, excetuando-se os cinco primeiros dias, pode ter contribuído para esta maior longevidade, uma vez que estes são importantes fontes de nutrientes. Leius (1960) já havia relatado a alimentação com fluídos do corpo do hospedeiro em dois himenópteros icneumonídeos, *Ictoplectis conqueritor* (Say) e *Scambus buolianae* (Htg). Da mesma forma que no presente estudo, Ridgway & Mahr (1990) constataram uma longevidade média mais alta nas fêmeas de *Sympiesis marylandensis* Girault acasaladas e mantidas com o hospedeiro do que nas não acasaladas mantidas apenas com uma fonte de carboidrato.

Jervis & Kidd, (1996) relataram que acasalamentos freqüentes podem diminuir o período de vida tanto de machos como de fêmeas parasitóides. Esta condição não foi avaliada no presente estudo. De acordo com Leuis (1960), a redução da longevidade de fêmeas de parasitóides pela alocação de recursos em

outras atividades como cópula e oviposição, pode ser minimizada, ou não ser observada, com o fornecimento de alimentos de alta qualidade, como mel.

Avaliando-se o número médio da progênie gerada ao longo da vida das fêmeas de *C. neotropicus*, observou-se que, para as de geração de campo, houve uma correlação negativa e significativa (Figura 2.6A) ($r = -0,9121$; $P < 0,001$) com o aumento da idade destas. Isso ocorreu tanto para a progênie feminina ($r = -0,877$; $P = 0,0019$), quanto para a masculina ($r = -0,878$; $P = 0,0001$). Para as fêmeas da geração de laboratório, a correlação negativa, no total e para ambos os sexos, não apresentou diferença significativa em nenhum dos casos (Figura 2.5B). Ridgway & Mahr (1990) relataram que, à medida que as fêmeas de *S. marylandensis* envelheciam, havia uma diminuição na geração de descendentes, sendo que um percentual médio total de 91% de descendentes foi gerado na primeira metade da vida das fêmeas, corroborando os resultados do presente trabalho.

Considerando a longevidade média de 21,8 dias para fêmeas provenientes da geração de campo, 93% da progênie feminina e 63% da masculina foi originada até a primeira metade da vida destas, o que corresponde a 65,38% do total da progênie. Isto não foi semelhante para as fêmeas da geração de laboratório, cuja longevidade média foi de 16,8 dias para as quais somente 19,28% da progênie masculina e 23,43% da feminina, foi gerada na primeira metade da vida, correspondendo a 29,42% da progênie total gerada. Ridgway & Mahr (1990) também observaram que 90% da progênie do sexo feminino, foi gerada até o primeiro terço da vida e nenhuma após a metade da vida. Clausen (1940) relatou que esse é um comportamento bastante comum,

visto que fêmeas jovens de himenópteros parasitóides possuem maior vigor e procuram gerar descendentes fêmeas no início da vida.

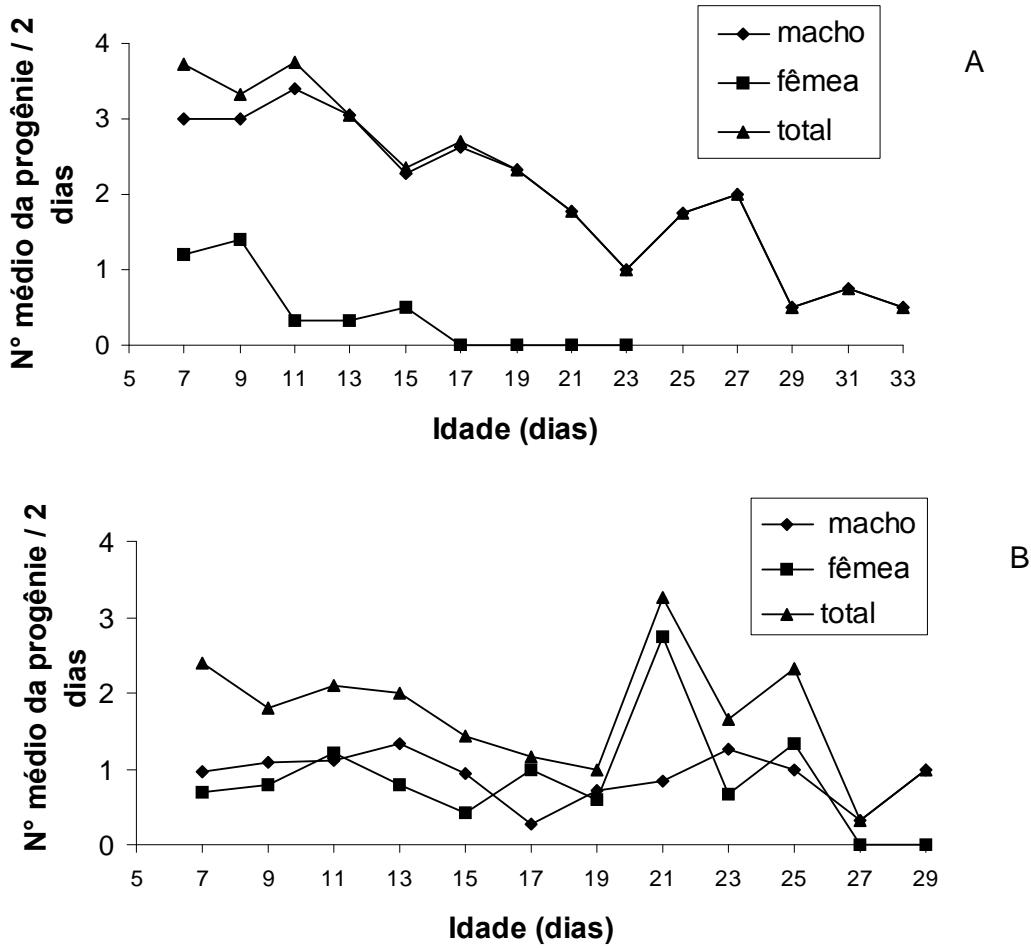


FIGURA 2.5 - Número médio da progênie gerada a cada dois dias por fêmeas de *Cirrospilus neotropicus* da geração de campo ($n = 23$) (A); e da de laboratório ($n = 22$) (B) em relação à idade destas (25 ± 1 °C; fotofase 12 horas).

Foi observada a presença de partenogênese arrenótoca em fêmeas de *C. neotropicus*, por um grande número de fêmeas de ambas as gerações, que, mesmo tendo entrado em contato com machos, apenas deram origem a indivíduos do sexo masculino (Figura 2.5). Supõe-se que esse comportamento é

resultado de condições bióticas e abióticas desfavoráveis as fêmeas. A partenogênese arrenótoca já foi referida para diversos eulofídeos parasitóides de *P. citrella*, como *C. vittatus*, *C. próx. a lyncus*, *C. pictus*, *C. diallus* e *R. incompleta*, e pode ser decorrente de fatores desfavoráveis, tais como, pequeno tamanho e número limitado de hospedeiros, ambiente confinado ou condições ambientas adversas (Lo Pinto, 1997, Urbaneja, 2000, Urbaneja et al. 2002; Lo Pinto et al., 2005).

A razão sexual da progênie de dez fêmeas de *C. neotropicus* da geração de laboratório e de cinco da de campo, as quais geraram progênie de ambos os sexos, foi respectivamente, 0,481 e 0,399 fêmeas. Não se registrou diferenças significativas entre o número de machos e fêmeas gerados tanto pelas fêmeas de laboratório ($\chi^2 = 0,911$; $gl = 1$; $P = 0,99$) quanto pelas de campo ($\chi^2 = 0,41$; $gl = 1$; $P = 0,98$). Esses valores podem representar a razão sexual biológica da espécie.

No ambiente, fêmeas de parasitóides podem não ser fecundadas, ou apresentar partenogênese arrenótoca por alguma restrição nesse meio; logo, a razão sexual desta população pode sofrer um desvio, causado pela prole das fêmeas partenogenéticas. Assim, levando-se a população como um todo, a razão sexual foi de 0,33 para fêmeas de laboratório e de 0,08 fêmeas de campo. Foi encontrada diferença significativa entre a proporção de sexo dessas fêmeas na prole de geração de campo ($\chi^2 = 15,5$; $gl = 1$; $P < 0,001$) e na de laboratório ($\chi^2 = 8,52$; $gl = 1$; $P < 0,01$). É possível que as fêmeas provindas do campo, ao emergirem tendo encontrado condições diferentes daquelas nas quais se desenvolveram, tenham sofrido um impacto, acentuando o comportamento partenogenético.

Urbaneja et al. (1998) registraram para *C. próx.* a *lynCUS* e *Quadrastichus* sp., que a proporção entre os sexos em ambas as espécies foi de cerca de 1:1, tendo considerado para o cálculo somente as fêmeas que geraram ambos os sexos. Os autores observaram ainda que, a proporção de fêmeas em sete grupos avaliados de ambas as espécies, variou entre 0,4 e 0,6 em relação ao total. Segundo Godfray (1994), em parasitóides que apresentam partenogênese arrenótoca é bastante normal que a proporção entre os sexos flutue devido a diferentes fatores bióticos e abióticos que influenciam o comportamento da fêmea durante o momento da postura.

A porcentagem média de machos observada em *C. vittatus*, a 25 °C, foi de $60,2 \pm 10,3\%$ (Urbaneja et al. 2002), sendo próxima à registrada para *C. neotropicus* considerando-se apenas as fêmeas não partenogenéticas. Da mesma forma, Lo Pinto et al. (2005), em estudos com *C. pictus* e *C. diallus*, a 26 °C, observaram que a proporção sexual foi de 0,73 ♂ : 0,27 ♀, para *C. pictus* e de 0,83 ♂ : 0,17 ♀ para *C. diallus*. Segundo estes autores esse padrão pode estar associado ao tamanho do hospedeiro disponível.

Lo Pinto (1997) já havia observado a preferência de *R. incompleta* em gerar descendentes machos em larvas de *P. citrella* de segundo e terceiro instares, enquanto que as de quarto foram utilizadas, na sua maioria, para gerar fêmeas. No presente estudo, esse fator não foi avaliado, uma vez que foram oferecidos apenas hospedeiros de terceiro instar o que pode ter contribuído para o maior número de machos registrados.

2.3.4 Fecundidade, taxas de oviposição e picadas alimentícias de fêmeas de *Cirrospilus neotropicus*

A fecundidade média registrada para fêmeas da geração de campo ($49,5 \pm 7,91$ ovos/fêmeas) diferiu significativamente ($F = 6,31$; $gl = 1$; $P = 0,015$) da constatada para as fêmeas provindas do laboratório ($32,7 \pm 8,67$ ovos/fêmea) (Tabela 2.7). Comparando-se esses valores com os obtidos por Urbaneja et al. (2002) para *C. vittatus* ($39,17$ ovos/ fêmea), verifica-se que esta última espécie evidenciou uma fecundidade média intermediária a das duas gerações de *C. neotropicus*.

TABELA 2.7 - Valores médios \pm EP, máximos e mínimos de fecundidade, taxa de oviposição (ovos/dia) e taxa de picadas alimentícias (larvas picadas/dia) registradas para as fêmeas de *Cirrospilus neotropicus* de gerações provindas do campo e de laboratório, ambas tendo como hospedeiro *Phylloconistis citrella* (25 ± 1 °C; fotofase 12 horas).

	Campo			Laboratório		
	Média \pm EP	Máximo	Mínimo	Média \pm EP	Máximo	Mínimo
Fecundidade	$49,5 \pm 7,91$ a	138	11	$32,7 \pm 8,67$ b	69	1
Taxa de oviposição	$2,8 \pm 0,276$	16	0	$1,63 \pm 0,158$	13	0
Taxa de picadas alimentícias	$1,7 \pm 0,175$	10	0	$0,87 \pm 0,166$	9	0

Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem significativamente ($\alpha = 0,05$)

Em relação às taxas diárias de oviposição, tanto em *C. próx. a lyncus* ($5,2 \pm 1,4$ ovos/dia) quanto em *C. vittatus* ($4,71$ ovos/dia), os valores registrados respectivamente, por Urbaneja (2000) e Urbaneja et al. (2002) foram superiores aos de *C. neotropicus* (Tabela 2.7).

Analizando o número médio de picadas alimentícias (larvas picadas/dia), verifica-se que o valor registrado, para ambas as gerações de fêmeas de *C. neotropicus* (Tabela 2.7), foi superior tanto ao de *C. próx. a lyncus*

($0,5 \pm 0,1$ larvas picadas/dia) quanto ao de *C. vittatus* (0,31 larvas/dia) observados respectivamente por Urbaneja (2000) e Urbaneja et al. (2002). O fato das fêmeas de *C. neotropicus* terem efetuado um maior número de picadas alimentícias não se refletiu em um maior número de ovos por dia (Tabela 2.7), apenas em maior viabilidade quando comparada com o desempenho de outras espécies do mesmo gênero, *C.* próx. a *lynCUS* (93,9%) (Urbaneja, 2000) e *C. vittatus* (92,1%) (Urbaneja et al., 2002).

Os resultados registrados, neste estudo, relativos ao ciclo de vida de *C. neotropicus* sugerem que este parasitóide, de ocorrência natural na região produtora de citros no Rio Grande do Sul tem um bom potencial para efetuar o controle biológico de *P. citrella*, em função de apresentar sincronia com o ciclo biológico do hospedeiro e longevidade maior do que o hospedeiro que é de, no máximo, cinco dias.

CAPÍTULO III

COMPORTAMENTOS DE PREDAÇÃO E PARASITISMO DE *Cirrospilus neotropicus* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EM *Phyllocnistis citrella* (LEPIDOPTERA: GRACILLARIIDAE)

3.1 Introdução

O minador-dos-citros, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) é um microlepidóptero originário do Sudeste Asiático, (Clausen, 1931). No início dos anos 90, *P. citrella* colonizou rapidamente pomares de citros em diversas regiões do mundo (Hoy & Nguyen, 1997), sendo registrado no Brasil em 1996, na região de Limeira, em São Paulo, e, em poucos meses, por todas as outras regiões produtoras do país (Cônsoli, 2001). O minador-dos-citros é considerado uma ameaça à citricultura devido ao fato da fase imatura, ao alimentar-se da epiderme de folhas jovens, formar minas que além de diminuírem a superfície fotossintética podem facilitar a penetração da bactéria causadora do cancro cítrico (Chagas & Parra, 2000; Ujiye, 2000; Chagas et al., 2001).

Dentre as alternativas de controle do minador, a importação, criação massal e liberação do parasitóide exótico *Ageniaspis citricola* Logvinoskaya (Hymenoptera: Encyrtidae) vem sendo realizada, não só no Brasil, mas em vários países produtores de citros no mundo (Neale et al., 1995; Argov & Rossler, 1996,

Pomerinke & Stansly, 1998; Paiva et al., 2000; Urbaneja et al., 2000). Entretanto, a partir da entrada do minador nos diferentes países, tem sido também verificada a ação de parasitóides nativos sobre o minador (LaSalle & Peña, 1997; Penteado-Dias et al., 1997; Paiva et al., 1998; Sá et al., 1999).

No Brasil, foi registrado um número significativo de espécies de parasitóides nativos associado a *P. citrella* após o seu estabelecimento. Entre estas, incluem-se espécies de eulofídeos dos gêneros *Cirrospilus*, *Elasmus*, *Sympiesis* e *Chrysocharis* (Jahnke et al., 2005; Efrom, 2006). De acordo com Jahnke et al. (2006) e Efrom (2006), em estudos realizados em Montenegro, RS, *Cirrospilus neotropicus* Diez & Fidalgo (Hymenoptera: Eulophidae) foi, dentre os parasitóides nativos, a espécie que apresentou a maior freqüência durante quatro anos consecutivos (2001 a 2004), sendo somente inferior à do exótico *A. citricola*, que já havia sido liberado em região próxima ao pomar de estudo. O mesmo também foi observado na Argentina, onde *C. neotropicus* manteve um percentual de parasitismo de 19% em *P. citrella*, inferior apenas ao de *A. citricola* (54%) (Diez et. al., 2000).

Da mesma forma, *C. neotropicus* já foi encontrado em praticamente toda a América do Sul parasitando *P. citrella*. Os primeiros registros desta espécie foram em Cuitlahuac e em Colima, México, no ano de 1996 (Bautista-Martinez et al., 1996; Perales-Gutiérrez et al., 1996). Entretanto, ela foi descrita somente em 2003 por Diez & Fidalgo.

Praticamente inexistem relatos sobre aspectos biológicos de *C. neotropicus* e sobre seu potencial na mortalidade de *P. citrella*. Assim, o objetivo deste trabalho foi estudar o comportamento de predação e parasitismo em duas gerações de fêmeas de *C. neotropicus* sobre *P. citrella*, sob condições

controladas, a fim de buscar subsídios para avaliar suas condições como agente de controle biológico desta espécie.

3.2 Material e métodos

Todos os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Biologia, Ecologia e Controle Biológico de Insetos (BIOECOLAB), do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia de Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

No estudo foram utilizadas fêmeas de *C. neotropicus* emergidas de folhas coletadas nos pomares de citros da Estação Experimental Agronômica da UFRGS, Eldorado do Sul ($30^{\circ}29' S$, $51^{\circ}06' W$), RS, e fêmeas da primeira geração obtida em laboratório.

Logo após a emergência, cada fêmea era transferida para tubos de vidro (3 x 10 cm) com algodão umedecido no fundo e mantidas em estufa climatizada ($25 \pm 1^{\circ}C$, fotofase 12 horas), onde permaneciam por um período de cinco dias com cinco machos, recebendo mel e pólen como alimento, com o objetivo de promover o acasalamento e garantir a fecundação, conforme Urbaneja (2000). Após este período, as fêmeas eram transferidas, individualmente, para caixas gerbox (12 x 12 x 3 cm) com meio de cultura agar-água (AA) 2% e folhas de limoeiro ‘Cravo’ (*Citrus limonia* Osb.), contendo doze larvas de terceiro instar de *P. citrella*, não parasitadas, provenientes de uma criação em laboratório. As fêmeas foram mantidas nas mesmas condições e, a cada dois dias, as folhas de citros eram retiradas, a umidade condensada na tampa das caixas gerbox era absorvida com algodão e novas folhas com doze larvas de terceiro instar eram oferecidas. Este procedimento foi seguido até a morte da fêmea. Considerava-se

como larvas de 3º instar aquelas com comprimento de 3 a 4 mm, de acordo com Cônsoli (1996) e Lim & Hoy (2005).

As folhas com larvas de *P. citrella* retiradas das caixas gerbox eram examinadas em estereomicroscópio registrando-se o número de ovos depositados em cada larva (parasitismo simples ou superparasitismo), sua posição em relação ao hospedeiro, o número de larvas vivas, o número de larvas apenas com picadas alimentícias (predadas) e o número de larvas que, além de picadas alimentícias, também possuíam ovos. Em relação à distância em que os ovos encontravam-se do hospedeiro, considerou-se “perto” aqueles encostados ao corpo da larva e, “longe”, os que distavam de 0,02 mm a 5 mm.

As folhas contendo larvas de *P. citrella* parasitadas foram individualizadas em placas de Petri (10 x 1,5 cm) contendo meio AA 2% e mantidas nas mesmas condições das fêmeas em caixas gerbox.

Foram analisados os valores registrados para as diferentes condições em que se encontravam os hospedeiros, ou seja, com picadas alimentícias, com parasitismo simples e com superparasitismo em relação à idade das fêmeas de ambos os grupos. De acordo com as condições de comportamento de ambos os grupos de fêmeas de *C. neotropicus*, foram obtidos dados de percentual médio, somando-se a percentagem de cada fator avaliado, dividido pelo número de fêmeas observadas. O percentual total foi calculado a partir do número absoluto de cada fator considerado, dividido pelo nº total de hospedeiros mortos e multiplicado por 100. Calculou-se o número médio de picadas alimentícias, parasitismo ou de oviposição a cada 2 dias e a percentagem média de superparasitismo realizada pela média de fêmeas vivas em uma ocasião de amostragem.

Foram analisadas as atividades de parasitismo e predação de um total de 23 fêmeas de *C. neotropicus* cujo desenvolvimento larval foi a campo e de 22 provenientes da primeira geração em laboratório. Às fêmeas provenientes do campo foram expostas 2.304 larvas de *P. citrella* e às da geração de laboratório 1.752 registrando-se no total, respectivamente, 1.176 e 583 larvas mortas.

Para as análises estatísticas, os dados de percentagem foram transformados para arco seno e testados quanto à normalidade por Shapiro-Wilk. Posteriormente, os valores foram comparados por análise de variância, ANOVA um critério, ou Kruskal-Wallis. As correlações entre os dados foram calculadas por Pearson. O nível de significância adotado foi $\alpha = 0,05$.

As análises numéricas foram feitas pelo programas BioEstat® 4.0 e Microsoft Office Excel® 2000.

3.3 Resultados e Discussão

A fêmea de *C. neotropicus* (Figura 3.1A) é um parasitóide idiobionte, portanto, antes de depositar os ovos, insere o ovipositor na larva de *P. citrella* (Figura 3.1B) paralisando-a e, consequentemente, levando-a à morte. Comportamento semelhante já foi relatado para os eulofídeos *Cirrospilus. pictus* (Ness), *C. diallus* (Walker), *C. vittatus* e *C. próximo. a lyncus* (Urbaneja, 2000; Urbaneja et al. 2002; Lo Pinto et al. 2005).

Em algumas ocasiões, as fêmeas depositavam os ovos distantes do corpo do hospedeiro em até 5 mm. Isto foi registrado em 2,56% do total de ovos postos pelas fêmeas de campo e 4,47% para as de laboratório. Lo Pinto et al. (2005) registraram este mesmo comportamento, entretanto, num percentual de 21,55% para *C. pictus* e *C. diallus*, nos quais os ovos foram depositados até 6 mm de distância do hospedeiro (*P. citrella*).

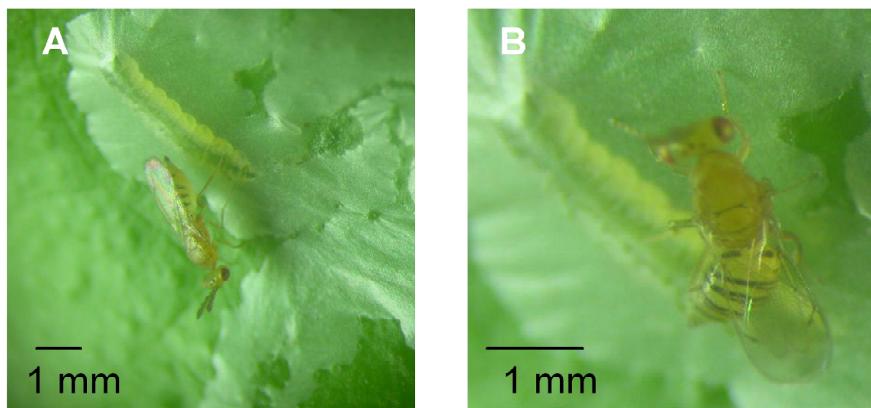


FIGURA 3.1 - (A) Fêmea de *Cirrospilus neotropicus* e larva de *Phyllocnistis citrella*; (B) Fêmea de *C. neotropicus* ovipositando em larva de *P. citrella*.

A mortalidade média total causada pelos parasitóides estudados foi de $48,71 \pm 3,291\%$ para as fêmeas provindas do campo e de $35,12 \pm 3,45\%$ para aquelas nascidas em laboratório, diferindo significativamente ($H = 4,742$; $gl = 1$; $P = 0,01660$). Lo Pinto et al. (2005), em densidades similares de hospedeiros oferecidos, verificaram que *C. pictus* ocasionou uma mortalidade total em torno de 30% e *C. diallus* em torno de 35%, valores semelhantes aos encontrados no presente estudo para as fêmeas de laboratório.

O número médio de indivíduos mortos por fêmeas de *C. neotropicus* da geração de laboratório ao longo de toda vida foi de $26,50 \pm 9,422$, variando de 5 a 82 entre as fêmeas, enquanto que nas fêmeas de campo a média foi de $51,13 \pm 7,47$ variando de 11 a 120. As médias diferiram significativamente entre os dois grupos ($F = 10,45$; $gl = 1$; $P = 0,002$).

Observou-se tanto nas fêmeas de *C. neotropicus* provenientes do campo quanto nas criadas em laboratório os seguintes comportamentos: realização apenas de picadas alimentícias no hospedeiro (Figura 3.2A), realização de picadas e deposição de ovos, deposição de apenas um ovo (Figura

3.2B) e superparasitismo (Figuras 3.2C e D). Quarenta e oito horas após a primeira exposição às larvas, 96% das fêmeas da geração do campo e 100% da de laboratório já haviam realizado postura.

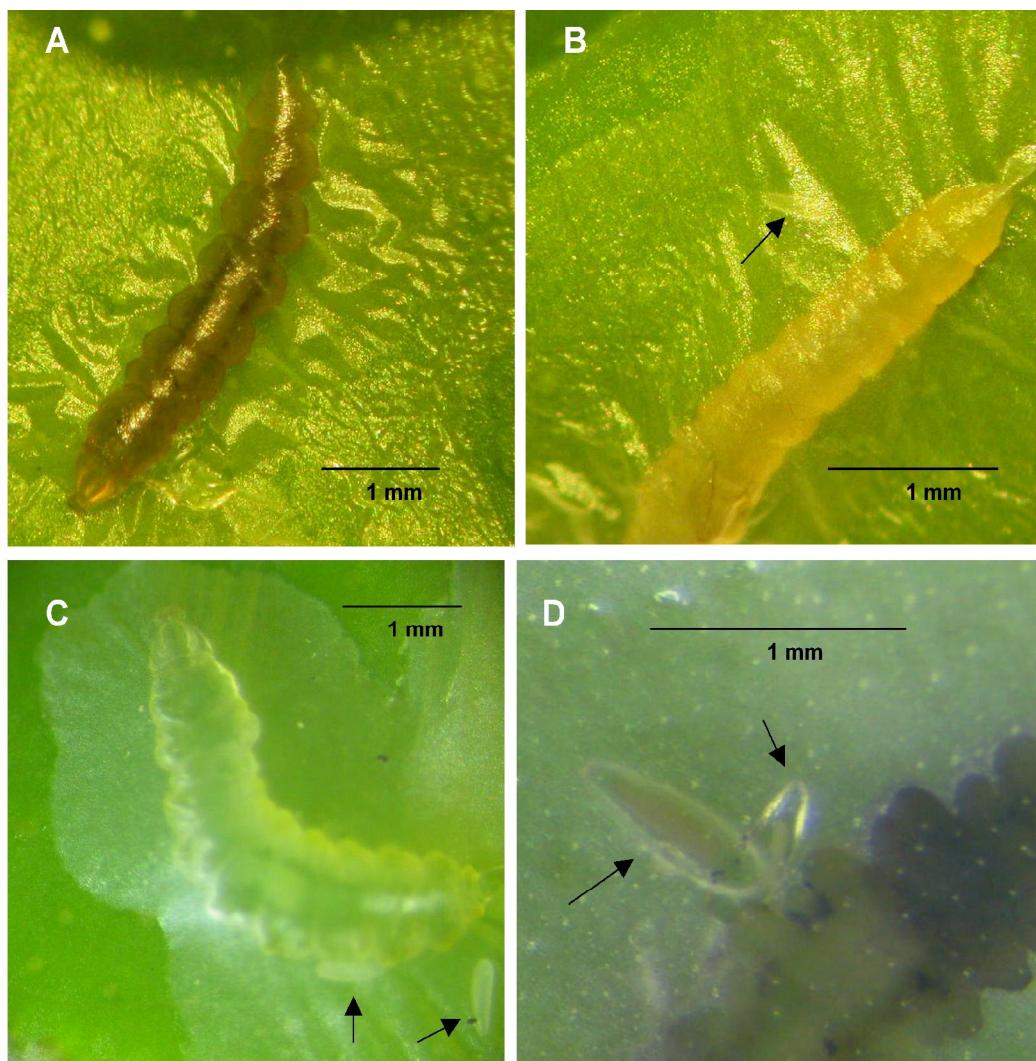


FIGURA 3.2 – (A) Aspecto da larva de *Phyllocnistis citrella* após picada alimentícia; (B) larva de *P. citrella* com 1 ovo de *Cirrospilus neotropicus* (parasitismo simples); (C) larva de *P. citrella* com 2 ovos de *C. neotropicus* (superparasitismo); (D) larva de *C. neotropicus* predando outra larva, sobre larva de *P. citrella* apresentando o corpo escuro (picada alimentícia).

Do total de 1.176 larvas de terceiro instar de *P. citrella* mortas por fêmeas de *C. neotropicus* da geração proveniente do campo, 258 apresentaram picadas alimentícias, 397 picadas e ovos e 521 apenas ovos. Em relação às larvas de *P. citrella* (583) mortas pelas fêmeas de *C. neotropicus* geradas em laboratório, 130 possuíam picadas alimentícias, 191 picadas e ovos e 262 apenas ovos.

O percentual médio de larvas de *P. citrella* mortas com picadas e ovos no grupo de fêmeas provenientes do campo ($31,7 \pm 2,18\%$) foi semelhante ao das fêmeas de laboratório ($32,56 \pm 3,36\%$) ($H = 0,08$, $gl = 1$, $P = 0,776$).

Em relação à percentagem média de hospedeiros mortos apenas com picadas alimentícias, da mesma forma não se verificou diferença significativa entre as de campo ($19,15 \pm 1,745\%$) e as de laboratório ($25,11 \pm 3,82\%$) ($H = 1,569$; $gl = 1$; $P = 0,21$) (Tabela 3.1).

Comparando a porcentagem média de hospedeiros mortos apenas com parasitismo, sem picadas, embora no grupo de fêmeas provindas de campo tenha sido registrado um maior valor ($49,15 \pm 2,899\%$) que naquele formado pelas fêmeas de laboratório ($42,33 \pm 4,069\%$), a diferença não foi significativa ($H = 0,528$; $gl = 1$; $P = 0,467$). Em termos percentuais constatou-se diferença apenas entre as larvas que possuíam picadas e um ovo ($H = 7,36$; $gl = 1$; $P = 0,0067$) e picadas mais dois ovos ($H = 5,793$; $gl = 1$; $P = 0,0016$) (Tabela 3.1).

Todas as fêmeas observadas realizaram picadas alimentícias. Do total de hospedeiros mortos pelas fêmeas da geração de campo e de laboratório, $50,85 \pm 2,899\%$ e $57,69 \pm 4,069\%$, respectivamente, apresentaram picadas alimentícias (com ou sem parasitismo), não diferindo significativamente estes valores ($H = 0,528$; $gl = 1$; $P = 0,467$).

TABELA 3.1- Percentual médio ± EP de larvas de terceiro instar de *Phyllocnistis citrella* mortas em diferentes condições por fêmeas de *Cirrospilus neotropicus* da geração de campo e de laboratório ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; fotofase 12 horas).

Condição do hospedeiro	% de larvas mortas (média ± EP)	
	campo	laboratório
picada alimentícia	19,51 ± 1,75 A	25,11 ± 3,82 A
picada e 1 ovo	28,21 ± 2,15 B	30,9 ± 3,33 A
picada e 2 ovos	2,72 ± 0,525 A	1,31 ± 0,58 B
picada e 3 ovos	0,62 ± 0,258 A	0,12 ± 0,12 A
picada e 4 ovos	0,08 ± 0,053 A	0,22 ± 0,22 A
picada e 5 ovos	0,09 ± 0,059	-
1 ovo	45,75 ± 2,846 A	40,47 ± 3,95 A
2 ovos	2,16 ± 0,62 A	1,47 ± 0,61 A
3 ovos	0,77 ± 0,3467A	0,32 ± 0,21 A
4 ovos	-	0,08 ± 0,06
5 ovos	0,09 ± 0,059	-

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente ($P = 0,02$).

A realização de picadas alimentícias como fator de mortalidade do hospedeiro é um comportamento bastante comum em eulofídeos gerados em laboratório, segundo Christie & Parrela (1987), Ridgway & Mahr (1990), Jervis & Kidd (1996), Urbaneja (2000), Urbaneja et al. (2002), Lim & Hoy (2005) e Lo Pinto et al. (2005). De acordo com estes autores, o corpo do hospedeiro é uma rica fonte protéica, ajudando a fêmea a conseguir energia para a oviposição.

Lim & Hoy (2005) observaram que indivíduos de *Semielacher petiolatus* Girault (Hymenoptera: Eulophidae) realizaram picadas alimentícias e oviposição em larvas de *P. citrella* de terceiro instar, consideradas as de maior tamanho, o que levou os autores a suporem que nestas larvas havia tanto reservas alimentícias para a fêmea quanto para sua prole.

As picadas alimentícias realizadas pelas fêmeas de ambas as gerações de *C. neotropicus* deixaram o corpo do hospedeiro com coloração escurecida no

local do ferimento, algumas vezes apresentando aspecto túrgido com o extravasamento de hemolinfa corporal (Figura 3.2A).

Ridgway & Mahr (1990) observaram que o eulofídeo *Sympiesis marylandensis* Girault também mata seu hospedeiro, *Phyllonorycter blancardella* (F.) (Lepidoptera: Gracillariidae), por inserção do ovipositor, num comportamento de experimentação do hospedeiro, sem necessariamente depositar ovos, fazendo, entretanto, com que o hospedeiro fique paralisado. Segundo os autores, o aspecto da larva paralisada se diferenciou da larva com picadas alimentícias: a primeira possuiu uma cor mais amarelada, enquanto que a segunda teve uma coloração escura, semelhante à observada em larvas de *P. citrella* expostas a *C. neotropicus*. Assim, é possível que no presente estudo, alguns dos hospedeiros considerados mortos por picadas alimentícias feitas por *C. neotropicus*, na verdade tenham morrido por paralisia, uma vez que não foi observada diferença entre os aspectos. Lim & Hoy (2005) comentaram que, em experimento com *S. petiolatus* parasitando *P. citrella*, alguns valores atribuídos às picadas alimentícias foram, possivelmente, decorrentes de fato da inserção do ovipositor, o que talvez tenha superestimado os dados de picadas alimentícias.

Percebe-se que há uma tendência à diminuição no número de picadas alimentícias realizadas à medida que a idade das fêmeas avança nos dois grupos (Figura 3.3 A e B). Entretanto, esta correlação não foi significativa.

Considerando o total de larvas mortas de *P. citrella* com a presença de parasitismo, a média foi de 80,85% para aquelas expostas às fêmeas de campo, e 79,9% àquelas expostas às fêmeas de laboratório. Entretanto, estes valores não diferiram significativamente ($H = 1,422$; $gl = 1$; $P = 0,233$).

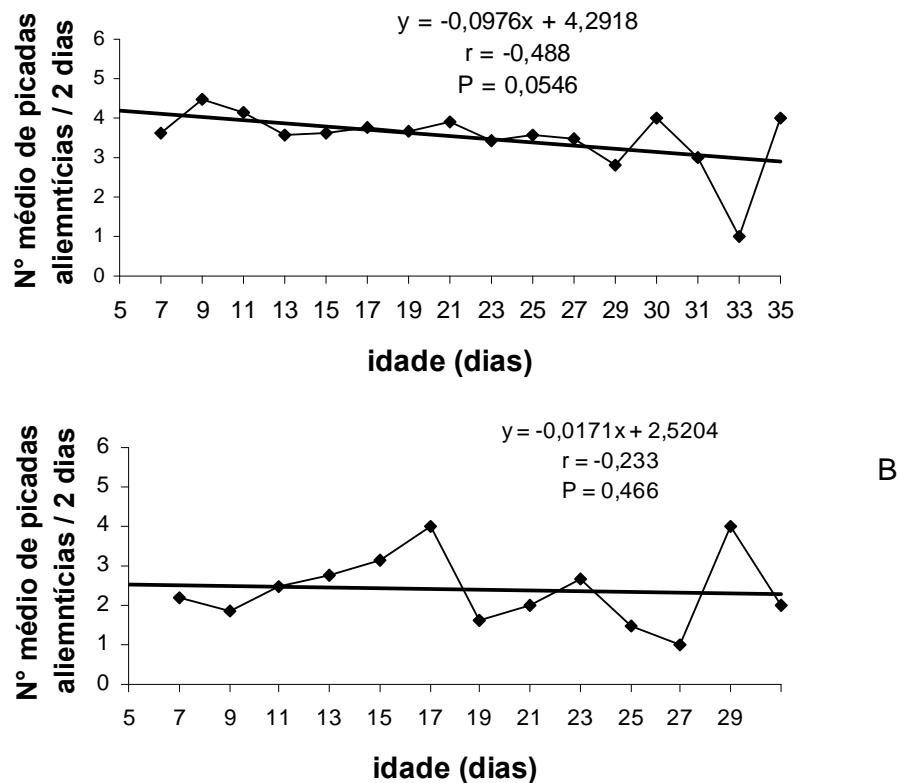


FIGURA 3.3 - Número médio de larvas de *Phyllocoptis citrella* com picadas alimentícias realizadas por fêmeas de *Cirrospilus neotropicus*, a partir do quinto dia de vida, registrado a cada 48 horas, (A) geração proveniente do campo e (B) geração originada no laboratório ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; fotofase 12 horas).

Todas as fêmeas testadas da geração de laboratório realizaram a primeira oviposição nos dois primeiros dias de contato com o hospedeiro. Apenas uma da geração de campo ovipositiu a partir da segunda observação.

Constatou-se nas fêmeas provindas de campo que, à medida que a idade avançou, o número de larvas parasitadas diminuiu ($r = -0,717$; $P = 0,0018$). Entretanto, no grupo de fêmeas do laboratório esta diminuição não foi evidente (Figura 3.4). É possível que esta diminuição não seja evidente nas fêmeas de laboratório pelo fato destas terem tido, em média, uma longevidade menor (16,8

dias), comparada às de campo (21,8 dias). Nesse caso as primeiras não teriam expressado todo seu potencial de fecundidade.

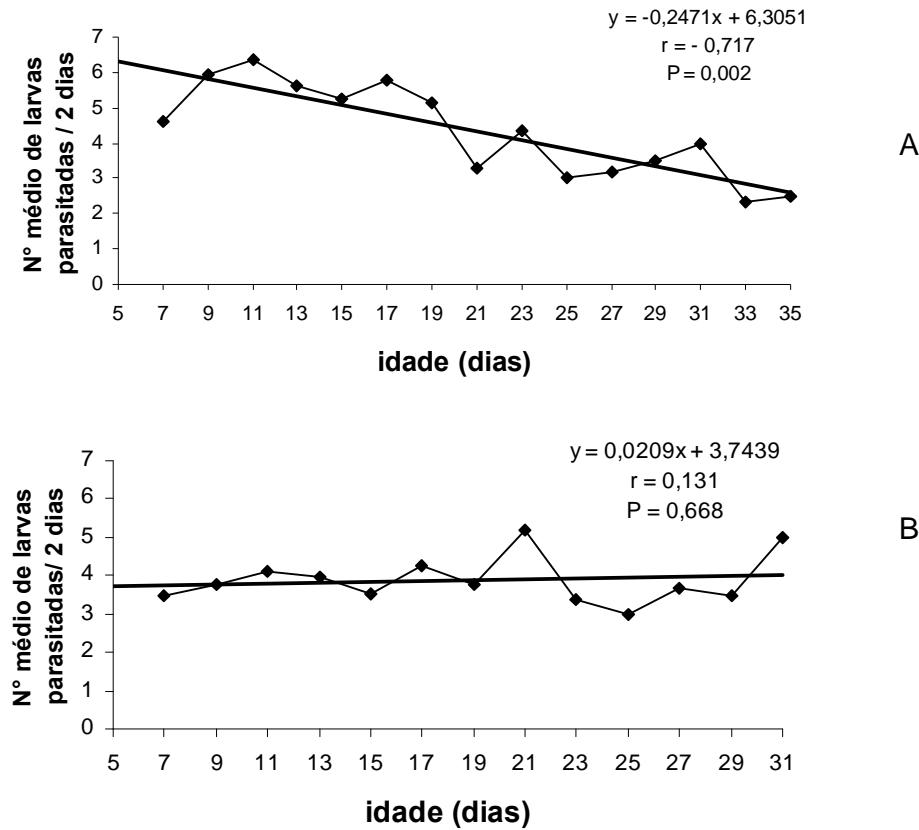


FIGURA 3.4 - Número médio de larvas de *Phylloconistis citrella* parasitadas por fêmeas de *Cirrospilus neotropicus*, a partir do quinto dia de vida, registrado a cada 48 horas. (A) Geração proveniente do campo e (B) geração originada em laboratório (25 ± 1 °C; fotofase 12 horas).

Constatou-se um maior percentual médio de larvas com parasitismo simples em relação ao total de larvas parasitadas em ambos os grupos de fêmeas, sendo $90,60 \pm 1,587\%$ para as de campo e $85,928 \pm 6,440\%$ para as do laboratório ($H = 1,7885$; $gl = 1$; $P = 0,181$). Estes dados corroboram outros estudos, visto que o parasitismo simples parece apresentar maiores vantagens para parasitóides idiobiontes e solitários como *C. neotropicus*. Segundo Godfray

(1994), Jervis & Kidd (1996) e Quicke (1997), o parasitismo simples é vantajoso para parasitóides idiossiontes porque a fêmea, ao ovipositar, geralmente mata o hospedeiro ou a larva o faz logo após a eclosão. Assim, o imaturo possui um recurso limitado para o desenvolvimento, não permitindo que mais de um indivíduo se desenvolva com sucesso. Isso não ocorre para os parasitóides cenobiontes em que o hospedeiro continua vivo e crescendo. Jervis & Kidd (1996) também afirmaram que parasitóides solitários possuem uma acentuada competição intra-específica, eliminando os competidores por recursos em um único hospedeiro.

O superparasitismo foi observado nos dois grupos de fêmeas, em 20 fêmeas de campo e em 10 fêmeas de laboratório, que colocaram o mínimo de dois e o máximo de cinco ovos por hospedeiro (Tabela 3.1).

Quando ocorrido superparasitismo, mais de uma larva eclodiu. Entretanto, constatou-se que apenas um parasitóide emergiu deste hospedeiro. Da mesma forma, Urbaneja (2000) constatou que para o eulofídeo *Cirrospilus* próximo a *lynCUS* não houve sobrevivência de um segundo parasitóide em um único hospedeiro. Nos dois casos é possível que tenha ocorrido competição por recursos e canibalismo (Figura 3.2D). O canibalismo é um comportamento bastante comum em parasitóides solitários (Viggiani, 1964; Urbaneja, 2000; Urbaneja et al., 2002; Goubault et al. 2003; Lim & Hoy, 2005; Lo Pinto et al., 2005). Já em outro eulofídeo, *Cirrospilus vittatus* Walker, Urbaneja et al. (2002) observaram que em condições de superparasitismo com até quatro ovos por larva de *P. citrella* houve a emergência de mais de um indivíduo por hospedeiro.

O percentual médio de superparasitismo evidenciado pelas fêmeas *C. neotropicus* originárias de campo ($6,92 \pm 1,21\%$) foi superior e significativamente

diferente ($H = 5,21$; $gl = 1$; $P = 0,0225$) daquele registrado para as fêmeas geradas no laboratório ($3,51 \pm 0,988\%$). Isso talvez tenha ocorrido pelo fato das fêmeas de campo terem se desenvolvido em hospedeiros presentes em plantas adultas os quais possivelmente apresentavam maior tamanho, acarretando maior vigor nestas.

Todas as fêmeas de ambas as gerações realizaram picadas alimentícias; contudo, 12 fêmeas originárias de criação de laboratório e apenas três da geração de campo não realizaram superparasitismo. Logo, o comportamento de picadas alimentícias foi mais freqüente do que o de superparasitismo. Outros autores constataram resultados semelhantes, como Lo Pinto et al. (2005) que, em condições controladas ($26 \pm 1^{\circ}\text{C}$; $65 \pm 5\%$ UR; fotofase 16 horas), registraram para ambas as espécies dos eulofídeos *Cirrospilus diallus* Walker e *Cirrospilus pictus* (Nees) em torno de 70% de mortalidade causada por picadas. Por outro lado, Urbaneja (2000), em estudos com *C. lyncus* nas condições de (25°C), observou porcentagens médias de: $47,78 \pm 7,87$ para parasitismo total, $21,0 \pm 5,7$ para picadas alimentícias e $68,1 \pm 9,3$ para a mortalidade total (% de picadas alimentícias + % de parasitismo), sendo mais freqüente o comportamento de parasitismo.

O eulofídeo ectoparasitóide, *Diglyphus begini* (Ashm.) causou mortalidade sobre a mosca minadora *Liriomyza huidobrensis* (Blanch) (Diptera: Agromyzidae), tanto através do parasitismo, quanto por predação, em experimento em casas de vegetação em cultivos comerciais de plantas ornamentais, na Colômbia, totalizando 40% de predação sobre os hospedeiros (Cure & Cantor, 2003). A atividade de predação em laboratório para vários eulofídeos tem sido comumente referida (Urbaneja, 2000; Urbaneja et al., 2002;

Lim & Hoy, 2005; Lo Pinto et al., 2005). A campo, entretanto, este comportamento não tem sido registrado na literatura.

No eulofídeo, *S. petiolatus* o superparasitismo em larvas de *P. citrella* foi observado a campo em pomares de citros na região da Sicília, Itália (Rizzo & Mineo, 2000). Lim & Hoy (2005) constataram, para esta mesma espécie, este comportamento em condições de laboratório, apesar de oferecerem 30 larvas de terceiro instar de *P. citrella* por dia para cada fêmea. Segundo estes últimos autores, as condições de confinamento em laboratório podem ter incentivado o superparasitismo em *S. petiolatus*. De acordo com Godfray (1994), o superparasitismo efetuado por uma única fêmea é vantajoso para assegurar que sua progênie irá realmente sobreviver e evitar que outras fêmeas venham a parasitar aquela mesma larva. Entretanto, este autor ressalta que este comportamento pode ser decorrente também de uma inabilidade da fêmea em distinguir larvas já parasitadas.

Outro fator que pode ter levado as fêmeas de *C. neotropicus* a ovipositar mais de uma vez numa mesma larva, neste estudo, é o fato de permanecerem por 48 horas junto aos mesmos hospedeiros, diminuindo assim a oferta de hospedeiros não parasitados.

No presente estudo, o percentual total de superparasitismo para geração de campo foi de 11,65 e para a de laboratório de 7,06, o que também pode ser explicado pelo recurso diferencial utilizado pelas fêmeas na fase imatura. Valores superiores aos registrados no presente estudo foram encontrados por diversos autores. Urbaneja (2000), em laboratório (25°C; 70 % UR; fotofase 16 horas), verificou um percentual total de 34,3%, em *C. proximus* a *Iyncus* sobre larvas de *P. citrella*. Para *C. vittatus*, nas mesmas condições,

Urbaneja et al. (2002) constataram um valor total ainda mais alto (42,8%). Do total de hospedeiros parasitados, *C. diallus* apresentou uma superparasitismo total de 27% e *C. pictus* de 37,2% (Lo Pinto et al., 2005).

Para ambos os grupos de fêmeas de *C. neotropicus*, o superparasitismo foi constatado desde a primeira observação realizada dois dias após a primeira exposição às larvas de *P. citrella*. Três dias após a primeira oviposição, os números médios totais de superparasitismo aumentaram (Figura 3.5), sendo este aumento mais visível no grupo do campo (Figura 3.5A). Estes dados corroboram o registrado por Lim & Hoy (2005) para o superparasitismo realizado por *S. petiolatus*. A partir do vigésimo quinto dia de observação verificou-se diminuição nos registros de superparasitismo no grupo do campo. Isto também ocorreu no grupo do laboratório. A percentagem média máxima de superparasitismo constatada a cada dois dias no grupo de *C. neotropicus* de fêmeas de laboratório foi de 5% do total de hospedeiros oferecidos e de 20% para o grupo de fêmeas de geração de campo.

O número médio de ovos depositados a cada dois dias pelas fêmeas provenientes de campo foi significativamente maior do que o das fêmeas criadas em laboratório durante todo o período de vida ($H = 11,774$, $gl = 1$, $P = 0,04$). Nas fêmeas de campo, o número médio máximo de ovos depositados a cada ocasião de amostragem foi de 7,7 no vigésimo sétimo dia de vida e, para as da geração de laboratório, 5,29 no décimo nono dia. O número de ovos depositados a cada dois dias diminuiu significativamente com o aumento da idade para as fêmeas do campo ($r = -0,519$; $P = 0,0326$). Já para fêmeas da geração de laboratório, não se observou esta mesma correlação ($r = -0,233$; $P = 0,466$) (Figura 3.6). Vinte e uma

fêmeas da geração de campo e dezessete das de laboratório ovipositaram até o dia da sua morte, não sendo registrado um período de pós-oviposição.

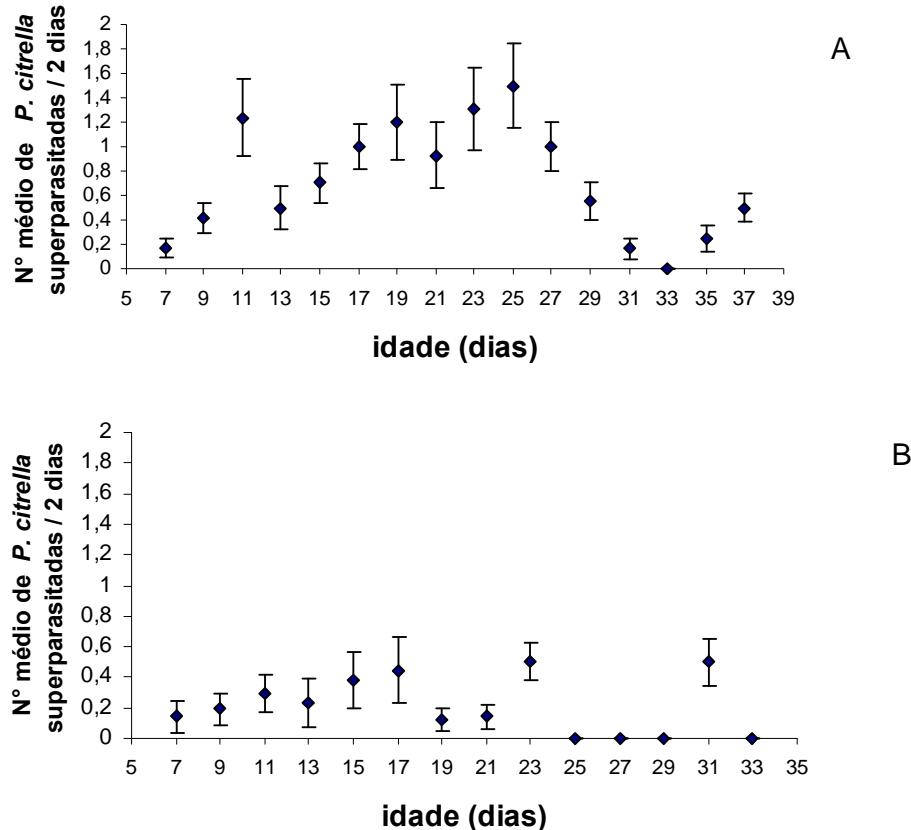


FIGURA 3.5 - Número médio e erro padrão de larvas de *Phylloconistis citrella* superparasitadas por fêmeas de *Cirrospilus neotropicus* a partir do quinto dia de vida, registrado a cada 48 horas. (A) Geração proveniente do campo e (B) geração originada no laboratório ($25 \pm 1^{\circ}\text{C}$; fotofase 12 horas).

Urbaneja (2000) observou que para fêmeas de *C. proximo. a lyncus*, em temperatura de 25°C o número de ovos depositados aumentou até o décimo oitavo dia, semelhante ao registrado para fêmeas de *C. neotropicus* da geração de laboratório. Entretanto, o autor verificou um valor médio superior (10,5 ovos/dia) e um decréscimo brusco após este período. Urbaneja et al. (2002), em estudos com *C. vittatus*, observaram que o padrão de oviposição se mostrou

dependente da idade da fêmea, corroborando o registrado para fêmeas de campo de *C. neotropicus*. Segundo Urbaneja et al. (2002), todas as fêmeas de *C. vittatus* iniciaram oviposição até o segundo dia de vida. Do sexto até o décimo sexto dia as fêmeas passaram a ter uma média de oviposição de 5 ovos/dia, sendo que as mesmas permaneceram realizando oviposição até sua morte.

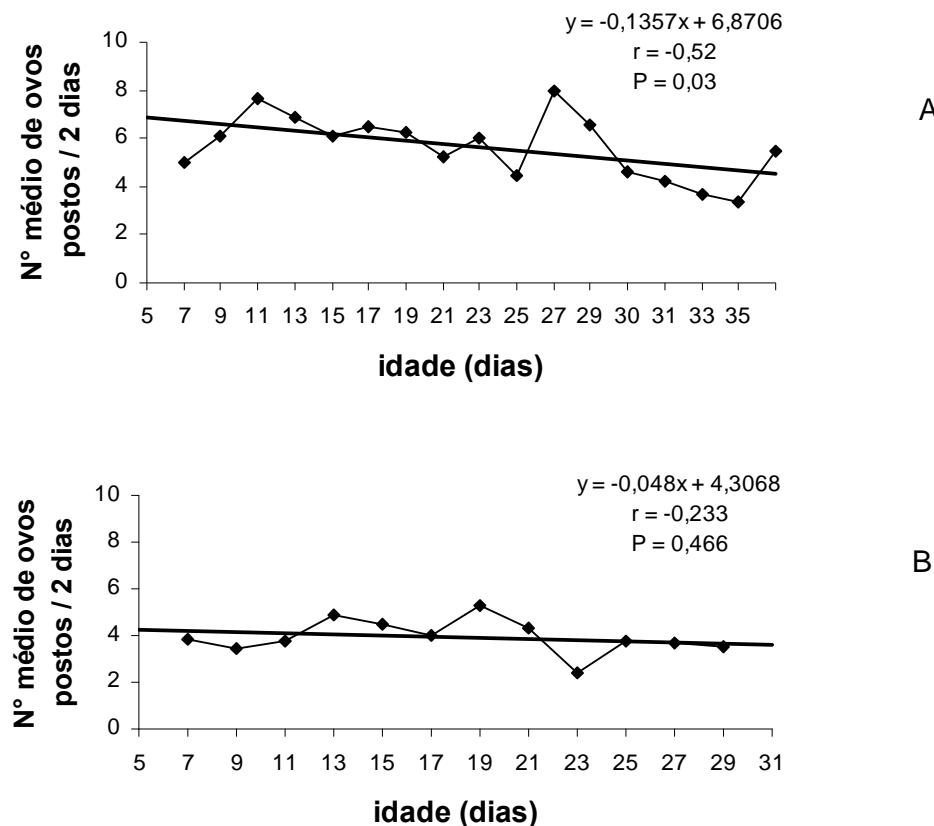


FIGURA 3.6 - Número médio de ovos postos em larvas de *Phylloconistis citrella* por fêmeas de *Cirrospilus neotropicus*, a partir do quinto dia de vida, registrado a cada 48 horas. (A) Geração proveniente do campo e (B) Geração originada no laboratório ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; fotofase 12 horas).

Considerando que foi observada uma longevidade média de 21,8 dias para geração de campo e 16,8 dias para geração de laboratório, do total de ovos depositados durante toda a vida, 49,34% foram ovipositados na primeira metade

da vida das fêmeas do primeiro grupo. Em relação às fêmeas geradas em laboratório, essa percentagem foi de 28,31%, indicando uma maior atividade no segundo período da vida destas.

Pelo estudo desenvolvido, constatou-se que fêmeas de *C. neotropicus* de ambos os grupos foram capazes de provocar a morte, tanto por parasitismo quanto por predação, em importante parcela das larvas de *P. citrella* oferecidas . Assim, tais resultados indicam um grande potencial da espécie no controle do minador especialmente nas condições de campo.

CAPÍTULO IV

CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos no presente estudo foi possível concluir que:

- *Cirrospilus neotropicus* é um ectoparasitóide idiobionte e pode apresentar partenogênese arrenótoca;
- a duração do ciclo biológico total de fêmeas de *Cirrospilus neotropicus* é maior do que a dos machos, tanto na prole oriunda da geração do campo, quanto na de laboratório;
- a duração do ciclo biológico total de *C. neotropicus* de ambas gerações é menor do que a do hospedeiro na mesma temperatura;
- a viabilidade da prole de ambas as gerações de *C. neotropicus* é semelhante e pode ser considerada baixa na fase larval;
- a viabilidade da prole das fêmeas da geração de campo foi superior a prole das de laboratório, independente da condição do hospedeiro;
- fêmeas de *C. neotropicus* da geração de campo são mais longevas e fecundas que as da geração de laboratório;
- *Cirrospilus neotropicus* ocasiona a morte de larvas de *Phyllocnistis citrella* tanto por parasitismo quanto por predação (picadas alimentícias) sendo

que em ambas as gerações a maior mortalidade foi causada por parasitismo;

- fêmeas de *C. neotropicus* confinadas realizam superparasitismo (auto-parasitismo). Entretanto, o mais freqüente é o parasitismo simples;
- larvas de *C. neotropicus*, em hospedeiros superparasitados, apresentam comportamento de canibalismo, de forma que apenas um parasitóide emerge de cada hospedeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALPHEN, J.J.M. van; VISSER, M.E. Superparasitism as an adaptative strategy for insect parasitoids. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v.35, p.59-79, 1990.
- AMALIN, D. M. et al. Natural mortality factors acting on citrus leafminer, *Phyllocnisits citrella*, in lime orchards in South Florida. **Biocontrol**, Montpellier, v.47, p.327-347, 2002.
- AMARAL, A. M. **Cancro cítrico**: permanente preocupação da citricultura no Brasil e no mundo. Brasília: EMBRAPA Recursos Genéticos e Agrobiologia, 2003. 5p. (EMBRAPA Recursos Genéticos e Agrobiologia. Comunicado Técnico, 86).
- ARGOV, Y.; RÖSSLER,Y. Introduction, release and recovery of several exotic natural enemies for biological control of the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella*, in Israel. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v.24, n.1, p.33-38, 1996.
- BAUTISTA-MARTINEZ, N. et al. Native parasitoids of the citrus leaf miner found at Cuitlahuac, Veracruz, México. In: HOY, M. A. (Ed.). **Managing the citrus leafminer**. Gainesville: University of Florida, 1996. p.73. Proceedings of International Conference of Citrus Leafminer, Orlando, Florida, 1996.
- BAZZOCCHI, G. G. et al. Effects of temperature and host on the pre-imaginal development of the parasitoid *Diglyphus isaea* (Hymenoptera: Eulophidae). **Biological Control**, Orlando, v.26, n.1, p.74-82, 2003.
- BECKER, R. F.P.; MORAES, L. A. H. **Relatório do programa de melhoria da fruta cítrica do vale dos rios Caí e Taquari**. Taquari: Fepagro ,2001. 8 p.
- BETANCOURT, C. M.; SCATONI, I. B. **Enemigos Naturales**: Manual Ilustrado para la Agricultura y la Forestación. Montevideo: Editorial Agropecuaria Hemisferio Sur, 2001. 149p.
- BRUNINGS, A. M.; GABRIEL, D. W. *Xanthomonas citri*: breaking the surface. **Molecular Plant Pathology**, London, v.4, n.3, p.141-147, 2003.
- BUZZI, Z. J. **Coletânea de termos técnicos de Entomologia**. Porto Alegre: Ufrgs, 2003, 219 p.

CALECA, V. et al. New data on the parasitism of citrus leafminer (*Phyllocnistis citrella* Stainton, Lep., Gracillariidae) in Sicily. **Bollettino di Zoologia Agraria e Bachicoltura**, Torino, v.30, n.2, p.213-222, 1998.

CHAGAS, M.C. M.; PARRA, J.R.P. *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae): Técnica de criação e biologia em diferentes temperaturas. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.29, n.2, p.227-235, 2000.

CHAGAS, M. C. M. et al. *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) and its relationship with the citrus canker bacterium *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* in Brazil. **Neotropical Entomology**, Jaboticabal, v.30, n.1, p.55-59, 2001.

CHRISTIE G.D.; PARRELA, M.P. Biological studies with *Chrysocharis parksii* (Hym.: Eulophidae) a parasite of *Liriomyza* spp. (Dipt.: Agromyzidae). **Entomophaga**, Paris, v.32, n.2, p.115-126, 1987.

CITROS colorem sudeste brasileiro de verde e laranja. **Visão Agrícola - Citros**, Piracicaba, v.2, p.90-92, 2004.

CLAUSEN, C. P. Two citrus leaf miners of the far east. **U. S. Dept. of Agriculture, Technical Bulletin**, n.252, p.1-13, 1931.

CLAUSEN, P. C. **Entomophagous insects**. New York: Mc. Graw-Hill, 1940. 688p.

CÔNSOLI, F.L. Lagarta-minadora-dos-citros, *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). In.: VILELA, E. et al. (Coord.). **Histórico e impacto das pragas introduzidas no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos, 2001. p.23-30.

CÔNSOLI, F. L.; ZUCCHI, R. A.; LOPES, J. R. S. *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856 (Lepidoptera: Gracillariidae: Phyllocnistinae): a lagarta minadora dos citros. Piracicaba : FEALQ, 1996. 39p.

COSTA, V. A. et al. Indigenous parasitoids (Hym., Chalcidoidea) of *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lep., Gracillariidae) in Jaguariúna, São Paulo State, Brazil: preliminary results. **Journal of Applied Entomology**, Hamburg, v.123, n.4, p.237-240, 1999.

CURE, J.C.; CANTOR, F. Atividade predadora e parasítica de *Digliphus begini* (Ashm.) (Hymenoptera: Eulophidae)sobre *Liriomyza huidobrensis* (Blanch.) (Díptera: Agromyzidae) em cultivos de *Gypsophila paniculata* L. **Neotropical Entomology**, Jaboticabal. v.32, n.1, p.85-89, 2003.

DIEZ, P. A.; FIDALGO, P. *Cirrospilus neotropicus* sp. n (Hymenoptera: Eulophidae): an indigenous biocontrol agent of the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). **Entomological News**, Philadelphia, v.114, n.2, p.98-104, 2003.

DIEZ, P. A.; FIDALGO, P.; FRIAS, E. "Ageniaspis citricola" (Hymenoptera: Encyrtidae), parasitoide específico de *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae): introducción y datos preliminares sobre su desempeño en la Argentina. **Acta Entomológica Chilena**, Santiago, v.24, p.69-76. 2000.

DIJKEN, M.J. van ; WAAGE, J.K. Self and conspecific superparasitism by the egg parasitoid *Trichogramma evenescens*. **Entomologia Experimentalis et Aplicata**, Dordrecht, v.43, n.2, p.183-192, 1987.

EDWARDS, O. R.; HOY, M. A. Biology of *Ageniaspis citricola* (Hymenoptera: Encyrtidae), a parasitoid of the leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). **Annals of Entomological Society of America**, College Park, v.91, n.5, p.654-660, 1998.

EFROM, C. F. S. **Aspectos da dinâmica populacional de *Phyllocnistis citrella* Stainton (lepidóptero: Gracillariidae) e seus parasitóides em dois pomares orgânicos de citros.** 2006. 102 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

EFROM, C. F. S.; REDAElli, L. R.; DIEFENBACH, L. M. G. Variação populacional de *Phyllocnistis citrella* e parasitismo em variedades de citros, sob manejo orgânico. **Revista Manejo Integrado de Plagas y Agroecología**, Turrialba, n.78, 2007 (no prelo).

ELEKÇIOGLU, N.; UYGUN, N. The parasitoid complex of citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillaridae) in the East Mediterranean region of Turkey and their role in biological control. **Turkish Journal of Zoology**, [S.I.], v.30, p.155-160, 2006.

FAO. **Agricultural Data – FAOSTAT**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/>>. Acesso em: 20 dez. 2006.

FRIAS, E.; DIEZ, P. Parasitoides (Eulophidae, Elasmidae) nativos del “minador de las hojas de los cítricos” (*Phyllocnistis citrella* Stainton) (Lep.: Gracillariidae) encontrados en la provincia de Tucuman. **Revista Colombiana de Entomología**, Santa Fe de Bogota, v.24, p.15-18. 1998.

GAMA, G. B. M. N.; MEDEIROS, J. X.; PINHEIRO, L. E. L. O comércio da cooperação como fator de desenvolvimento para o sistema agroindustrial de citros. **Laranja**, Cordeirópolis, v.21, n.2, p.239-258, 2000.

GARCIA, F. R. et al. Parasitismo natural de *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856 (Lepidoptera: Gracillariidae) no oeste de Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v.45, n.2, p.139-143, 2001.

GARIJO, C.; GARCÍA, E.J. *Phyllocnistis citrella* (Stainton, 1856) (Insecta: Lepidoptera: Gracillariidae: Phyllocnistidae) en los cultivos de cítricos de

Andalucía (Sur España): Biología, ecología y control de la plaga. **Boletín de Sanidad Vegetal -Plagas**, Madrid, v.20, n.4. p.815-826, 1994.

GIACOMETTI, D. C. Taxonomía das espécies cultivadas de citros baseada em filogenética. In: RODRIGUEZ, O.; VIÉGAS, F.; POMPEU JUNIOR, J.; AMARO, A.A. (Eds.). **Citricultura Brasileira**. Campinas: Fundação Cargill, 1991. 941p.

GODFRAY, H. C. J. **Parasitoids, behavioral and evolutionary ecology**. Princeton: Princeton University Press, 1994. 473p.

GOUBAULT, M. et al. Effect of expected offspring survival probability on host selection in a solitary parasitoid. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v.109, n.2, p.123-131, 2003.

GRAVENA, S. Minadora das folhas dos citros: a mais nova ameaça da citricultura brasileira. **Laranja**, Cordeirópolis, v.15, n.2, p.397-404, 1994.

GRAVENA, S. Lagarta minadora dos citros no Brasil. **Laranja**, Cordeirópolis v.17, n.1, p.286-288, 1996.

GRAZIANO, F. **Os números da citricultura**. São Paulo: Secretaria da Agricultura e do Abastecimento do Estado de São Paulo, 1997. 72p.

GRUPEX. **O cultivo dos citros no Rio Grande do Sul**: referências tecnológicas. Porto Alegre: FEPAGRO, 2005. 141p.

HEPPNER, J.B. Citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*, in Florida (Lepidoptera: Gracillariidae: Phyllocnistinae). **Tropical Lepidoptera**, Gainesville, v.4, n.1, p.49-64, 1993.

HESPENHEIDE, H. A. Bionomics of leaf-mining insects. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v.36, p.535-560, 1991.

HOY, A.M.; NGUYEN, R. Classical biological control of the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* Stainton. **Tropical Lepidoptera**, Gainesville, v.8, n.1, p.1-20, 1997.

IBGE. **Tabela 4 - Áreas destinada à colheita e colhida, quantidade produzida, rendimento médio e valor da produção dos principais produtos das lavouras permanentes, segundo as Grandes Regiões e Unidades da Federação - Brasil – 2004**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 03 nov. 2006.

INTERNATIONAL SOCIETY OF PLANT PATHOLOGY. **Contém banco de dados com nomes de bactérias patogênicas em plantas**. Disponível em: <http://www.isppweb.org/names_bacterial_xant.asp>. Acesso em: 16 jul. 2004.

JACAS, J.A.; GARRIDO, A. Differences in the morphology of male and female pupae of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). **Florida Entomologist**, Lutz, v.79, n.4, p.603-607, 1995.

JAHNKE, S. M.; REDAELLI, L. R.; DIEFENBACH, L. M. G. *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera, Gracillariidae) and its parasitoids in two citrus orchards in Montenegro, RS, Brazil. **Iheringia, Série Zoologia**, Porto Alegre, v.95, n.4, p.359-363, 2005.

JAHNKE, S. M.; REDAELLI, L. R.; DIEFFENBACH, L. M. G. Parasitismo em *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) em pomares de citros em Montenegro, RS. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.35, n.3, p.357-363, 2006.

JERVIS, M.; KIDD, N. **Insect natural enemies**. London: Chapman & Hall, 1996. 491p.

JERVIS, M.A.; KIDD N.A. Parasitoid adult nutrition ecology: implications for biological control. In: BRAFORD, A.H.; CORNELL,H. (Eds.). **Theoretical approaches to biological control**. Cambridge: Cambridge University Press, 1999. p 131-141.

JOÃO, P. L. Situação e perspectiva da citricultura no Rio Grande do Sul. In: REUNIÃO TÉCNICA DE FRUTICULTURA, 5, 1998, Veranópolis, RS. **Anais...** Veranópolis: FEPAGRO, 1998. p.15-18.

KING, B.H. Sequence of offspring sex production in the parasitoid wasp *Nasonia vitripennis* in response to unparasitized versus parasitized hosts. **Animal Behaviour**, London, v.45, n.6, p.1236-1238, 1993.

LaSALLE, J.; GAULD, I. D. Parasitic Hymenoptera and the biodiversity crisis. **Redia**, Firenze, v.74, n.3, p.315-334, 1991.

LaSALLE, J.; PEÑA, J. E. A new species of *Galeopsomyia* (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae): A fortuitous parasitoid of the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v.80, n.4, p.461-470, 1997.

LEGASPI, J. C. et al. The citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) In South Texas: Incidence and parasitism. **Florida Entomologist**, Gainesville, v.82, n.2, p.305- 314, 1999.

LEIUS, K. Attractiveness of different foods and flowers to adults of some hymenopterous parasites. **The Canadian Entomologist**, Ottawa, v.92, p.369-376, 1960.

LIM, U. T.; HOY, A. M. Biological assessment in quarantine of *Senielacher petiolatus* (Hymenoptera: Eulophidae) as a potential classical biological control

agent of citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) in Florida. **Biological Control**, Orlando, v.33, p.87-95, 2005.

LO PINTO, M. Parassitismo e biologia di *Ratzeburgiola incompleta* Boucek (HYMENOPTERA: EULOPHIDE: EULOPHINAE) ectoparasitoide di *Phyllocnistis citrella* Stainton (LEPIDOPTERA: GRACILLARIDAE: PHYLLOCNISTINAE). **Frustula Entomologica**, Pisa, v.20, n.33, p.184-192, 1997.

LO PINTO. et al. Biology and behavior of *Cirrospilus diallus* and *Cirrospilus pictus*, parasitoids of *Phyllocnistis citrella*. **Biocontrol**, Dordrecht, v.50, n.6, p.921-935, 2005.

LONGO, S; SISCARO, G.; VACANTE, V. Recent approaches to the biological control of the citrus leafminer in Italy. **Journal of Entomological Science**, Tifton, v.33, n.2, p.427-435, 1998.

LOURENÇÂO, A. L.; MÜLLER, G. W. Minador das folhas dos citros: praga exótica potencialmente importante para a citricultura brasileira. **Laranja**, Cordeirópolis, v.15, n.2, p.405-412, 1994.

MAVRODIEVA, V.; LEVY, L.; GABRIEL, D. W. Improved sampling methods for real-time polymerase chain reaction diagnosis of citrus canker from field samples. **Phytopathology**, Saint Paul, v.94, n.1, p.61-68, 2004.

MILANO, P. **Otimização da criação de Ageniaspis citricola Logvinovskaya, 1983 (Hymenoptera: Encyrtidae) em laboratório e sua adaptação no estado de São Paulo**. 2002. 68f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade Estadual de São Paulo, Piracicaba, 2002.

MONTES, S. M. N. M; et al. Ocorrência de parasitóides da larva minadora dos citros, *Phyllocnistis citrella* Stainton, no município de Presidente Prudente, SP. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.68, n.2, p.63-66, 2001.

MOREIRA, C. S.; MOREIRA, S.. História da citricultura no Brasil In: RODRIGUEZ. O; VIÉGAS, F.; POMPEU JUNIOR, J.; AMARO, A. A. **Citricultura brasileira**. Campinas: Fundação Cargill, 1991. 941p.

NASCIMENTO, F. N. et al. Parasitismo em larvas de *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) no estado do Rio de Janeiro. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.29, n.2, p.377-379, 2000.

NEALE, C. et al. Importation, host specificity testing, rearing and release of three parasitoids of *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) in Eastern Australia. **Journal of the Australian Entomological Society**, Brisbane, v.34, p.343-348, 1995.

PAIVA, P. E. B.; BENVENGA, S. R.; GRAVENA, S. Observações sobre a lagarta minadora dos citros e seus parasitóides no Estado de São Paulo. **Laranja**, Cordeirópolis, v.19, n.2, p.285-292, 1998.

PAIVA, P. E. B.; GRAVENA, S.; AMORIM, L. C. S. Introdução do parasitóide *Ageniaspis citricola* Logvinovskaya para controle biológico da minadora das folhas dos citros *Phyllocnistis citrella* Stainton no Brasil. **Laranja**, Cordeirópolis, v.29, n.1, p.149-154, 2000.

PARRA, A. L. G. C.; VILELA, E. F.; BENTO, J. M. S. Horário de oviposição e ritmo diário de emergência de *Phyllocnistis citrella* (Stainton) (Lepidoptera: Gracillariidae) em laboratório. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.32, n.3, p.365-368, 2002.

PARRA, et al. O controle biológico da larva-minadora-dos-citros. **Visão Agrícola-Citros**, Piracicaba, v.2, p.64-67, 2004.

PEÑA, J. E.; SCHAFFER, B. Intraplant distribution and sampling of the citrus leafminer (Lepidoptera: Gracillariidae) on lime. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.90, n.2, p.458-464, 1997.

PERALES-GUTIÉRREZ, M. A. et al. Native parasitoids of citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* Staiton in Colima, Mexico. **Southwestern Entomologist Scientific**, Weslaco, v.21, n.3, p.349-350, 1996.

PENTEADO-DIAS, A. M. et al. Parasitóides de *Phyllocnistis citrella* (Stainton) (Lepidoptera: Gracillariidae: Phyllocnistinae) no estado de São Paulo. **Laranja**, Cordeirópolis, v.18, n.1. p.79-84, 1997.

POMERINKE, M. A.; STANSLY, P. A. Establishment of *Ageniaspis citricola* (Hym., Encyrtidae) for biological control of *Phyllocnistis citrella* (Lep., Gracillaridae) in Florida. **Florida Entomologist**, Gainesville, v.81, n.3, p.361-372, 1998.

QUICKE, D. L. J. **Parasitic wasps**. London: Chapman & Hall, 1997. 470 p.

RIDGWAY, N.M.; MAHR, D. Reproduction, development, longevity, and host mortality of *Sympiensis marylandensis* (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of spotted tentiform leafminer (Lepidoptera: Gracillariidae), in laboratory. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v.83, n.4. p.195-199, 1990.

RIZZO, M. C.; MINEO, G. Su alcune strategie comportamentali in Eulofidi ectoparasitoidi (Hymenoptera, Chalcidoidea). **Bollettino di Zoologia Agraria e Bachicoltura**, Torino, v.31, n.2, p.197-206, 2000.

RODRIGUEZ, O. et al. **Citricultura brasileira**. Campinas: Fundação Cargill, 1991. 492p.

SÁ, L. A. N. et al. **Parasitóides da larva minadora da folha dos citrus, *Phyllocnistis citrella* Stainton, estudos no laboratório de quarentena "Costa Lima" em Jaguariúna, SP.** Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 1999. p.17-18. (EMBRAPA Meio Ambiente. Comunicado Técnico, 2).

SÁ, L. A. N. et al. Distribuição geográfica dos parasitóides nativos e exótico da larva-minadora-dos-citros em seis estados brasileiros. In: REUNIÃO ESPECIAL DA SBPC, 7, 2001, Manaus. **Resumos...** Manaus, 2001.

SALT, G. Experimental studies in insect parasitism II. Superparasitism. **Proceedings of the Royal Society of London, Series B**, London, v.122, p.57-75, 1934.

SCHÄFER, G.; BASTIANEL, M.; DORNELLES, A. L. C. Porta-enxertos utilizados na citricultura. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.4, p.723-733, 2001.

SCHAUFF, M. E.; LA SALLE, J; WIJESEKARA, G. A. The Genera of Chalcid parasitoids (Hymenoptera: Chalcidoidea) of citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae). **Journal of Natural History**, London, v.32, n.7, p.1001-1056, 1998.

SILVEIRA NETO et al. **Manual de ecologia dos insetos.** Piracicaba: Agronômica Ceres, 1976. 419p.

SMITH, J. M.; HOY, M. A. Rearing methods for *Ageniaspis citricola* (Hymenoptera: Encyrtidae) and *Cirrospilus quadristriatus* (Hymenoptera: Eulophidae) released in a classical biological control program for the citrus leafminter *Phyllocnistis citrella* Lepidoptera: Gracillariidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v.78, n.4, p.600-608, 1995.

SPEIRS, D.C.; SHERRAT, T.N.; HUBBARD, S.F. Parasitoid diets: does superparasitism pay? **Trends in Ecology and Evolution**, Amsterdam, v.6, p.22-25, 1991.

SOUZA, A. C. Frutas cítricas: singularidades do mercado. **Preços Agrícolas**, Piracicaba, n.173, p.8-10, 2001.

STRAND, M.R. The physiological interactions of parasitoids with their host and their influence on reproductive strategies. In: WAAGE, J.; GREATHEAD, D. (Eds.). **Insects parasitoids**. Orlando: Academic Press, 1986. p.97-129. 13 th Symposium of the Royal Entomological Society of London.

SUGIMOTTO, T. Ecological studies on the relationship between the ranunculus leaf mining fly, *Phytomyza ranunculy* Schrank (Diptera: Agromyzidae) and its parasite, *Kratochviliana* sp. (Hymenoptera : Eulophidae) from the viewpoint of spatial structure I. Analysis of searching and attacking behaviors of the parasite. **Applied Entomology and Zoology**, Tokyo, v.12, n.2, p.87-103, 1977.

UJIYE, T. Biology and control of the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) in Japan. **Japan Agricultural Research Quarterly**, Ibaraki, v.34, n.3, p.167-173, 2000.

URBANEJA, A. G. **Biología de *Cirrospilus* sp. próximo a *lynCUS* (Hym.: Eulophidae), ectoparasitoide del minador de las hojas de los cítricos, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lep.: Gracillariidae). Dinámica e impacto de los enemigos naturales del minador.** 2000. 146 f. Tesis (Doctoral) - Universidad Politécnica de Valencia, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Departamento de Producción Vegetal, Valencia, España, 2000.

URBANEJA, A. et al. Dinamica e impacto de los parasitoides autoctonos de *Phyllocnistis citrella* Stainton, en la comunidad valenciana. **Investigación on Agraria: Producción y Protección Vegetales**, Madrid, v.13, n.3, p.409-423, 1998.

URBANEJA, A. et al. Effect of temperature on development and survival of *Cirrospilus* sp. near *lynCUS* (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoid of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). **Biological Control**, Orlando, v.28, n.2, p.339-344, 1999.

URBANEJA, A. et al. Indigenous natural enemies associated with *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in Eastern Spain. **Biological Control**, Orlando, v.18, n.3, p.199-207, 2000.

URBANEJA, A. et al. Effects of variable fotoperiod on development and survival of *Cirrospilus* sp. near *lynCUS* (Hymenoptera: Eulophidae), an ectoparasitoid of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). **Florida Entomologist**, Florida, v.84, n.2, p.305-307, 2001.

URBANEJA, A. et al. Effect of temperature on life history of *Cirrospilus vittatus* (Hymenoptera: Eulophidae), an ectoparasitoid of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). **Biological and Microbiological Control**, [S.I.], v.95, n.2, p.250-255, 2002.

VIGGIANI, G. Contributi alla conoscenza degli insetti fitofagi minatori e loro simbionti – IV. Morfo-biologia del *Pediobius saulius* Walk. (Hym. Eulophidae) e considerazioni sulle altre specie congenere europee. **Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria “Filippo Silvestri”** Portici, Napoli, v.22, p.205-244, 1964.

VIVAS, A. G.; LOPEZ, G. Distribución de fases inmaduras de *Phyllocnistis citrella* Stainton, según el tamaño de la hoja. **Boletín de Sanidad Vegetal-Plagas**, Madrid, v.21, p.559-571, 1995.

VINSON, S.B. The general host selection behavior of parasitoid hymenoptera and comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. **Biological Control**, Orlando, v.11, n.2, p.79-96, 1998.

VENKATESWARLU, C.; RAMAPANDU, S. Relationship between incidence of canker and leafminer in acid lime and sathgudi sweet orange. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v.45, n.2, p.227-228, 1992.

WILLINK, E.; SALAS, H.; COSTILLA, M. A. El minador de la hoja de los cítricos, *Phyllocnistis citrella* en el NOA. **Avance Agroindustrial**, Tucumán, v.16, n.65, p.15-20, 1996.

WAAGE, J.K. Family planning in parasitoids: adaptative patterns of progeny and sex allocation. In: In: WAGE, J.K; GREATHEAD, D. (Eds.). **Insects parasitoids**. Orlando: Academic Press, 1986. p.63-65. 13 th Symposium of the Royal Entomological Society of London.