



JOANINA GLADENUCCI

**ESTRATÉGIAS DE ARMAZENAMENTO E APTIDÃO DE
Palmistichus elaeisis (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EM
REGIME DE TEMPERATURA FLUTUANTE VISANDO SUA
CRIAÇÃO MASSAL**

**LAVRAS-MG
2023**

JOANINA GLADENUCCI

**ESTRATÉGIAS DE ARMAZENAMENTO E APTIDÃO DE *Palmistichus elaeisis*
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EM REGIME DE TEMPERATURA
FLUTUANTE VISANDO SUA CRIAÇÃO MASSAL**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, área de concentração em Entomologia, para obtenção do título de Doutora.

Prof^a. Dr^a. Rosangela Cristina Marucci
Orientadora

Prof. Dr. Alexandre dos Santos
Coorientador

**LAVRAS-MG
2023**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Gladenucci, Joana.

Estratégias de armazenamento e aptidão de *Palmistichus
elaeisis* em regime de temperatura flutuante visando sua criação
massal / Joana Gladenucci. - 2023.

66 p.

Orientador(a): Rosangela Cristina Marucci.

Coorientador(a): Alexandre Santos dos.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2023.

Bibliografia.

1. Controle biológico. 2. Tempo de armazenamento. 3.
Temperatura flutuante. I. Marucci, Rosangela Cristina. II. Santos
dos, Alexandre. III. Título.

JOANINA GLADENUCCI

**ESTRATÉGIAS DE ARMAZENAMENTO E APTIDÃO DE *Palmistichus elaeisis*
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EM REGIME DE TEMPERATURA
FLUTUANTE VISANDO SUA CRIAÇÃO MASSAL**

**STORAGE STRATEGIES AND FITNESS OF *Palmistichus elaeisis* (HYMENOPTERA:
EULOPHIDAE) IN FLUATING TEMPERATURE REGIME FOR ITS MASSAL
BREEDING**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, área de concentração em Entomologia, para obtenção do título de Doutora.

APROVADO em 28 de setembro de 2023

Dr^a. Rosangela Cristina Marucci
Dr^a. Elisa Queiroz Garcia
Dr. Fabrício Fagundes Pereira
Dr. Alexandre José Ferreira Diniz
Dr^a. Ivana Lemos Souza

Prof^a. Dr^a. Rosangela Cristina Marucci
Orientadora

Prof. Dr. Alexandre Souza
Coorientador

**LAVRAS-MG
2023**

Aos meus pais Irene e João

Ofereço

*Ao meu amado filho Claudio Gladenucci Sena, ao me tornar
sua mãe, fiquei mais valente!*

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela oportunidade da vida e coragem de sempre seguir em frente! Principalmente a essa oportunidade de realizar meu sonho de ser entomologista nesta altura de minha vida.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), que me acolheu e contribui para meu desenvolvimento acadêmico através do Programa de Pós-graduação em Entomologia desta instituição.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Ao grupo Vittia e JB biotecnologia por acreditar e contribuir financeiramente para realização desta tese.

Ao meu filho, Claudio Gladenucci Sena, minha força motriz, em meus dias difíceis penso em você e as dificuldades se abrandam, uma honra ser sua mãe.

Aos meus pais, Irene Aparecida Martinez Gladenucci e João Gladenucci, pela vida e pelo amor, ensinamentos e educação.

Aos meus irmãos, Joalice Gladenucci de Souza e Irenildo Gladenucci pela parceria, aos meus cunhados Luciano Donizete Pereira de Souza e Paula Sartori Gladenucci pelo respeito, e aos meus sobrinhos João Pedro Gladenucci de Souza, Angelina Sartori Gladenucci e Cecilia Sartori Gladenucci pela presença constante em minha vida.

À profa. Dr^a. Rosangela Cristina Marucci, por ter me acolhido em seu grupo de pesquisa, por compartilhar seu conhecimento e experiências de vida, pelos sábios conselhos, por acreditar em meu potencial e pela paciência nesta reta final. Minha tese não seria a mesma sem suas considerações.

Ao prof. Dr. Alexandre dos Santos, pela coorientação, por ter compartilhado seus conhecimentos sobre estatística, pela paciência e colaboração com meu desenvolvimento pessoal e profissional.

Ao Luciano de Souza, meu the best! Pelo companheirismo e ajuda nas avaliações dos experimentos e manutenção das criações dos insetos, preciosa ajuda na normatização desta tese além dos momentos de descontração, admiro-te muito!

Aos amigos do Laboratório de Controle Biológico – LCBIOL, Letícia Pereira, Rosamara de Souza Coelho e Ana Luiza Rodrigues, tenho um carinho muito especial por vocês.

Ao Emanuel Costa, pelo acolhimento e integração no departamento, pelos cafés, e bate-papos e junto com a Rosamara, serão amigos para vida toda.

Ao Núcleo de Estudos em Entomologia (NEENTO), no qual integrei por três anos e fiz muitos amigos, além de compartilhar dicas preciosas sobre criação de insetos, minha paixão.

À Isabel Nogueira, secretária do departamento que me acolheu e orientou quando cheguei em Lavras-MG. À técnica de laboratório Léia (Eliana) pelo auxílio em determinados experimentos. À Angélica por organizar com sua equipe a faxina em nossos laboratórios.

Ao Departamento de Entomologia, por toda a infraestrutura disponibilizada para a realização dos experimentos. Aos professores do programa de pós-graduação em Entomologia, por toda a atenção, ensinamentos e pela ajuda prestada.

Aos membros da banca, pela disponibilidade de contribuir para a melhoria do presente trabalho.

E a todos que, de alguma forma, contribuíram para a concretização desta etapa em minha vida e todos os meus amigos, pelos momentos de lazer e incentivos que tornaram essa jornada mais leve.

Obrigada!!!

“Tem coisas que a gente faz para a gente, só pela gente! Porque na maior parte das vezes, não tem aplausos é só a gente com a gente.”

Autor desconhecido

RESUMO

Um dos pontos importantes para o sucesso no uso de agentes biológicos de controle é o aperfeiçoamento de técnicas de armazenamento para otimização da criação massal, levado em consideração a qualidade do insumo biológico produzido. Nesta pesquisa utilizamos endoparasitoide de pupas *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) para determinação da melhor relação temperatura/tempo de armazenamento de pupas parasitadas e não parasitadas do hospedeiro alternativo *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) e das fêmeas do endoparasitoide. Foram avaliados a duração do ciclo; porcentagem de parasitismo e emergência; número de descendentes, razão sexual e longevidade de machos e fêmeas. Nos três bioensaios a longevidade das fêmeas foi superior à dos machos. Todas as pupas de *T. molitor* armazenadas e, após ofertadas as fêmeas de *P. elaeisis* foram parasitadas e não houve efeito da temperatura e tempo de armazenamento sobre a razão sexual. Levando-se em consideração os critérios de qualidade como taxa de emergência, progênie e longevidade dos adultos de *P. elaeisis* é possível obter um desempenho razoável do parasitoide fornecendo pupas armazenadas em temperaturas entre 15 e 20 °C por período de 10 a 15 dias. Com base nos mesmos critérios anteriores, além da razão sexual, verificou-se que a oferta de pupas de *T. molitor* armazenadas após 15 dias de parasitismo propiciou bom desempenho do parasitoide desde que a temperatura mínima esteja em torno de 15 °C e por um período máximo de 13 dias de armazenamento. Por último, ao armazenarmos as fêmeas de *P. elaeisis* por até 6 dias à 15°C o seu desempenho reprodutivo foi pouco afetado. Também sem desatrelar do controle qualidade e visando produzir um insumo biológico mais vigoroso simulamos diferentes condições de temperatura para medir aptidão da população de *P. elaeisis* mantida em Regime Térmico Flutuante (RTF) de 30 ± 2 °C durante o dia e 20 ± 2 °C à noite, a qual foi contrastada com a população mantida em Regime Térmico Constante (RTC) de 25 ± 2 °C. Foram avaliados o desempenho do parasitoide, condicionamento físico e tolerância térmica das fêmeas por sete gerações. A população de *P. elaeisis* mantida em RTF com oscilação térmica de 10 °C dia/noite degenerou após a 5ª geração e seu desempenho foi comprometido no transcorrer das gerações. Em relação ao condicionamento físico das fêmeas de *P. elaeisis* mantidas em RTF verificou-se que fertilidade acumulada foi 2,7 vezes menor do que no RTC. Além disso, as fêmeas submetidas as temperaturas extremas de 30 e 35 °C, sobreviveram por curto período com taxas reduzidas de parasitismo e ausência de emergência sendo possível apenas avaliar a tolerância térmica para as temperaturas de 15 e 20 °C. De modo geral, houve maior efeito sobre fecundidade diária e acumulada e fertilidade diária e acumulada na população mantida em RTF em relação a RTC e entre as gerações. Nossos resultados indicam que o uso de RTF dentro da faixa de 10 °C não permitiu a produção de *P. elaeisis* dentro de um padrão de qualidade aceitável para ser adotado em biofábricas.

Palavras-chave: Controle de qualidade. Baixa temperatura. Desempenho.

ABSTRACT

One of the important points for the successful use of biological control agents is the improvement of storage techniques to optimize mass breeding, considering the quality of the biological input produced. In this research, we used endoparasitoid from *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) pupae to determine the best temperature/time relationship for storage of parasitized and non-parasitized pupae of the alternative host *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) and females of the endoparasitoid. Cycle duration was evaluated; percentage of parasitism and emergence; number of offspring, sex ratio and longevity of males and females. In the three bioassays, the longevity of females was greater than that of males. All *T. molitor* pupae stored and, after being offered, *P. elaeisis* females were parasitized and there was no effect of temperature and storage time on sex ratio. Considering quality criteria such as emergence rate, progeny and longevity of *P. elaeisis* adults, it is possible to obtain a reasonable performance of the parasitoid by providing pupae stored at temperatures between 15 and 20 °C for a period of 10 to 15 days. Based on the same previous criteria, in addition to the sexual ratio, it was found that the supply of *T. molitor* pupae stored after 15 days of parasitism provided good performance of the parasitoid as long as the minimum temperature is around 15 °C and for a period maximum 13 days of storage. Finally, when storing *P. elaeisis* females for up to 6 days at 15°C, their reproductive performance was little affected. Also without detaching from quality control and aiming to produce a more vigorous biological input, we simulated different temperature conditions to measure the fitness of the *P. elaeisis* population maintained in a Fluctuating Thermal Regime (RTF) of 30 ± 2 °C during the day and 20 ± 2 °C at night, which was contrasted with the population maintained in a Constant Thermal Regime (RTC) of 25 ± 2 °C. The performance of the parasitoid, physical fitness and thermal tolerance of females were evaluated for seven generations. The *P. elaeisis* population maintained in RTF with a thermal oscillation of 10 °C day/night degenerated after the 5th generation and its performance was compromised over the generations. Regarding the physical conditioning of *P. elaeisis* females kept in RTF, it was found that accumulated fertility was 2.7 times lower than in RTC. Furthermore, females subjected to extreme temperatures of 30 and 35 °C survived for a short period with reduced rates of parasitism and absence of emergence, making it possible to only evaluate thermal tolerance for temperatures of 15 and 20 °C. In general, there was a greater effect on daily and accumulated fertility and daily and accumulated fertility in the population maintained in RTF in relation to RTC and between generations. Our results indicate that the use of RTF within the 10 °C range did not allow the production of *P. elaeisis* within an acceptable quality standard to be adopted in biofactories.

Keywords: Quality control. Low temperature. Performance

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO I

Figura 1 – Duração do ciclo (A), emergência (B), progênie (C), longevidade (D) e longevidade entre machos e fêmeas (E) de *Palmistichus eleaeisis* após o parasitismo de pupas de *Tenebrio molitor* armazenadas a 0; 2,5; 7,5 °C e a 25 °C (controle) por 5, 10, 15, 20 e 30 dias.28

Figura 2 – Duração do ciclo (A), emergência (B), progênie (C) e (D), razão sexual (E), longevidade (F) e longevidade de machos e fêmeas (G) de *Palmistichus elaeisis* após armazenamento das pupas de *Tenebrio molitor* parasitadas a 10, 15 e 20 °C e a 25 °C (controle). 30

Figura 3 – Mortalidade (A), parasitismo (B), duração do ciclo (C), emergência (D), progênie (E), razão sexual (F) longevidade (G) e longevidade de machos e fêmeas (H) de *Palmistichus elaeisis* cujas fêmeas foram armazenadas a 10; 15; 20 °C e 25 °C (controle) a cada 48 h por até 24 dias..... 34

ARTIGO II

Figura 1 - Duração do ciclo × regime térmico (A), duração do ciclo × geração (B), emergência × regime térmico (C), emergência × geração (D), progênie × regime térmico (E) e progênie × geração (F) de *Palmistichus elaeisis* mantidos sob regimes térmicos constante e flutuante durante cinco gerações.....51

Figura 2 – Longevidade das fêmeas × geração (A), Fecundidade acumulada × geração (B), e fertilidade acumulada × regime térmico (C) e fertilidade acumulada × geração (D) do parasitoide *Palmistichus elaeisis* mantidos sob regimes térmicos constante e flutuante durante cinco gerações..... 52

Figura 3 – Fertilidade acumulada × regime térmico (A) e fertilidade acumulada × gerações (B) das fêmeas de *Palmistichus elaeisis* mantidas em regime térmico constante e flutuante e submetidas as temperaturas de 15, 20 e 25 °C durante o parasitismo e por cinco gerações. ...55

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Figura 1 – Desenho esquemático com a síntese dos resultados. (A) Relação temperatura × tempo de armazenamento das pupas não parasitadas e parasitadas do hospedeiro alternativo *Tenebrio molitor* e das fêmeas do endoparasitoide. (B) Desempenho, condicionamento físico e tolerância térmica de fêmeas de *Palmistichus elaeisis* proveniente das populações submetidas a regime térmico flutuante e constante por sete gerações. 65

LISTA DE TABELAS

ARTIGO I

Tabela 1 – Função de ligação e distribuição de erro das variáveis resposta dos bioensaios empregados nos modelos lineares generalizados mistos (GLMM).....25

ARTIGO II

Tabela 1 – Função de ligação e distribuição de erro das variáveis resposta dos bioensaios Desempenho (D), Condicionamento térmico (CT) e Tolerância Térmica (TT), empregados nos modelos lineares generalizados mistos (GLMM).....47

Tabela 2 – Fertilidade diária do parasitoide *Palmistichus elaeisis* mantidos em regime térmico de temperatura constante e flutuante durante cinco gerações.....51

Tabela 3 – Fecundidade diária e acumulada e fertilidade diária do parasitoide *Palmistichus elaeisis* mantidos em regimes térmicos constante e flutuante durante gerações consecutivas e submetidas as temperaturas de 15, 20 e 25°C.....53

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	13
1 INTRODUÇÃO GERAL	13
REFERÊNCIAS	16
2 SEGUNDA PARTE	19
ARTIGO 1 – Estratégias de armazenamento do hospedeiro alternativo <i>Tenebrio molitor</i> (Coleoptera: Tenebrionidae) e do parasitoide <i>Palmistichus elaeisis</i> (Hymenoptera: Eulophidae) em diferentes temperaturas	19
ARTIGO 2 Aptidão de <i>Palmistichus elaeisis</i> (Hymenoptera: Eulophidae) mantido em regime térmico flutuante.....	41
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	64

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO GERAL

Entre os agentes comercializados para uso no controle biológico, o endoparasitoide pupal, *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) se destaca pelo hábito gregário e generalista, com capacidade de controlar diversas espécies de lepidópteros desfolhadores e coleópteros, interrompendo o ciclo de pragas em sistemas agrícolas e florestais (DELVARE; LASALLE, 1993; PEREIRA, et al., 2009).

Palmistichus elaeisis, descrito inicialmente em pupas de *Eupseudosoma involuta* (Lepidoptera: Arctiidae) e *Eulasia eucerus* (Lepidoptera: Geometridae) apresenta extenso relato na literatura de parasitismo em pupas de diversos hospedeiros (BITTENCOURT; BERTI FILHO, 1999; CANDELÁRIA; WILCKEN, 2014; DELVARE; LASALLE, 1993; GIL-SANTANA; TAVARES, 2006; MARTINS, 2016; MORAIS et al., 2019; PEREIRA; ZANUNCIO; ZANUNCIO, 2008; PEREIRA et al., 2009; RODRÍGUEZ-DIMATÉ et al., 2016; TAVARES et al., 2019; ZACHÉ et al., 2013; ZANUNCIO et al., 2015).

No entanto, seu bom desenvolvimento em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) ZANUNCIO et al. (2008) associado ao baixo custo de multiplicação contribuiu para viabilizar sua criação massal e comercialização (PEREIRA; ZANUNCIO; ZANUNCIO, 2008; PEREIRA, et al., 2009). O desempenho reprodutivo de *P. elaeisis* em pupas de *T. molitor* apresenta parasitismo de 100%; emergência de 90,76%; progênie de 70,07 indivíduos por pupas; razão sexual de 0,94; longevidade média de 22,65 e 28,3 dias para fêmeas e machos, respectivamente. ZANUNCIO et al. (2008) subsidia e o respalda como hospedeiro preferencial e econômico para criação massal.

Todo desenvolvimento do ciclo (ovo-adulto) de *P. elaeisis* ocorre no interior das pupas hospedeiras. Os ovos são hialinos e alongados com período de incubação de 48 horas e período larval de 8 dias. Os estágios de pré-pupa e pupa duram cerca de 10 dias, sendo que as pupas apresentam escurecimento do tegumento e dos olhos (BITTENCOURT; BERTI FILHO, 2004a). De acordo com a estratégia de maturação dos ovos as fêmeas são sinovigênicos (JERVIS et al. 2008; POURIAN et al., 2015), sendo que a maturação dos ovos se completa após 24 horas da emergência (MORAIS et al., 2019). Assim, os ovos ricos em vitelo estão em processo de maturação durante a fase adulta e as proteínas do hospedeiro *T. molitor* favorecem o desenvolvimento e acelera a maturação dos ovos do parasitoide (JÓZEFIK et al., 2016;

SOYELU; WALADDE, 2013). A temperatura considerada ótima para o desenvolvimento larval de *P. elaeisis* é 22 °C e à 30 °C o ciclo biológico é paralisado devido a mortalidade do parasitoide no estágio de pré-pupa (BITTENCOURT; BERTI FILHO, 2004b). Os mesmos autores apontam que o limite térmico superior se encontra abaixo de 30 °C e o limite térmico inferior varia de 5,0 a 7,5 °C.

Técnicas de armazenamento de insetos, embora imprescindíveis para o planejamento da produção (VAN LENTEREN, 2010), são pouco exploradas, principalmente, em condições tropicais. Além disso, os agentes de controle biológico necessitam serem transportados, em condições de baixa temperatura para que não ocorra emergência prévia à liberação. Apesar de importante, a etapa de armazenamento tanto dos hospedeiros/presas, quanto do insumo biológico muitas vezes é negligenciada em biofábricas. Embora seja decisiva para o sucesso ou fracasso da criação em larga escala e para a atuação do agente de controle (QUEIROZ et al., 2017), pois pode impactar na performance e sobrevivência do insumo produzido (LYSYK, 2004).

Poucas pesquisas têm abordado o armazenamento do hospedeiro de criação e dos adultos do parasitoide nos últimos anos e maior ênfase tem sido dada aos parasitoides de ovos como *Telenomus podisi* e *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) (QUEIROZ et al., 2017; SILVA et al., 2019). No entanto, os autores enfatizam a importância de associar o armazenamento ao controle de qualidade do insumo biológico produzido.

Além de se considerar as características biológicas relacionadas ao padrão de qualidade em criações massais, a performance dos inimigos naturais liberados no campo, é outro fator relevante para medir a qualidade do agente de controle produzido (KUBRAK et al., 2017; VAN LENTEREN, 2010). Assim, a possibilidade de fornecer condições térmicas flutuantes durante a criação massal pode otimizar o desempenho dos inimigos naturais liberados no campo, uma vez que o momento da liberação os insetos se deparam com temperaturas flutuantes (CHIDAWANYIKA; TERBLANCHE, 2011; COLINET et al., 2015; KRISTENSEN et al., 2008; THOMSON; ROBINSON; HOFFMANN, 2001).

Os parasitoides de ovos de percevejos *T. podisi* submetido por quatro gerações em regime térmico flutuante apresentaram melhor sobrevivência em comparação aos mantidos em regime térmico constante (CASTELLANOS et al. 2019). Resultados similares foram obtidos para o parasitoide larval *Leptopilina boulardi* (Hymenoptera: Figitidae) com taxa de parasitismo e tempo de desenvolvimento favorável no regime de temperatura flutuante em comparação com o regime de temperatura constante (DELAVA et al., 2016).

Na maioria das biofábricas utiliza-se quase que exclusivamente apenas regime de temperatura constante, por uma questão de praticidade e visando obter taxas consistentes de crescimento da criação em larga escala de inimigos naturais (CHIDAWANYIKA; TERBLANCHE, 2011; PARRA; ZUCCHI, 2004). Assim, visando aprimorar a criação massal de *P. elaeisis* fomos motivados a pesquisar o efeito de regimes térmicos flutuantes sobre a aptidão do parasitoide de pupas por gerações consecutivas.

Com base no exposto nós hipotetizamos que é possível armazenar pupas não parasitadas e parasitadas de *T. molitor* e fêmeas adultas de *P. elaeisis* à baixa temperatura por tempos variáveis, sem comprometer a qualidade do agente biológico. Da mesma forma, hipotetizamos que o regime térmico flutuante pode melhorar o desempenho dos descendentes de *P. elaeisis*, com chance de melhor adaptação às condições de oscilação térmica durante o momento das liberações.

Deste modo, o objetivo da nossa pesquisa foi: i) determinar a melhor relação temperatura e tempo de armazenamento de pupas parasitadas e não parasitadas de *T. molitor* que garante o parasitismo e o desenvolvimento aceitável de *P. elaeisis*, assim como, avaliar a viabilidade do armazenamento de adultos de *P. elaeisis* após a emergência sem comprometer a performance reprodutiva do parasitoide após o armazenamento e ii) avaliar o desempenho do parasitoide, o condicionamento físico e tolerância térmica das fêmeas de *P. elaeisis* em regime térmico flutuante por sete gerações.

Os resultados dessa pesquisa foram organizados em dois artigos científicos, o quais serão apresentados na sequência: Artigo 1 – Estratégias de armazenamento do hospedeiro alternativo *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) e do parasitoide *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) e Artigo 2 - Aptidão de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) mantido em regime térmico flutuante.

REFERÊNCIAS

- BITTENCOURT, M. A. L.; BERTI FILHO, E. Preferência de *Palmistichus elaeisis* por pupas de diferentes lepidópteros praga. **Scientia Agricola**, v. 56, n. 4, p. 1281–1283, 1999.
- BITTENCOURT, M. A. L.; BERTI FILHO, E. Desenvolvimento dos estágios imaturos de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera, Eulophidae) em pupas de Lepidoptera. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 48, n. 1, p. 65–68, 2004a.
- BITTENCOURT, M. A. L.; BERTI FILHO, E. Exigências térmicas para o desenvolvimento de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera, Eulophidae) em pupas de cinco espécies de lepidópteros. **Iheringia. Série Zoologia**, v. 94, n. 3, p. 321–323, 2004b.
- CANDELÁRIA, M. C.; WILCKEN, C. F. *Palmistichus elaeisis* (Delvare & LaSalle, 1993) (Hymenoptera: Eulophidae), possible agent for the biological control of *Urbanus proteus* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Hesperidae). **SHILAP Revista de Lepidopterología**, v. 42, n. 167, p. 379–383, 2014.
- CASTELLANOS, N. L.; BUENO, A. F.; HADDI, K.; et al. The Fitness and Economic Benefits of Rearing the Parasitoid *Telenomus podisi* Under Fluctuating Temperature Regime. **Neotropical Entomology**, v. 48, n. 6, p. 934–948, 2019.
- CHIDAWANYIKA, F.; TERBLANCHE, J. S. Costs and benefits of thermal acclimation for codling moth, *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae): Implications for pest control and the sterile insect release programme. **Evolutionary Applications**, v. 4, n. 4, p. 534–544, 2011.
- COLINET, H.; SINCLAIR, B. J.; VERNON, P.; RENAULT, D. Insects in fluctuating thermal environments. **Annual Review of Entomology**, v. 60, p. 123–140, 2015.
- DELAVA, E.; FLEURY, F.; GIBERT, P. Effects of daily fluctuating temperatures on the *Drosophila–Leptopilina bouvardi* parasitoid association. **Journal of Thermal Biology**, v. 60, p. 95–102, 2016. Elsevier.
- GIL-SANTANA, H. R.; TAVARES, M. T. *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae): a new Delvarare parasitoid of *Dione juno juno* (Cramer) (Lepidoptera:Nymphalidae) parasitoid. **Scientific Communication**, v. 48, n. 1, p. 891–892, 2006.
- JERVIS, M. A.; ELLERS, J.; HARVEY, J. A. Resource acquisition, allocation, and utilization in parasitoid reproductive strategies. **Annual Review of Entomology**, v. 53, p. 361–385, 2008.
- JÓZEFIK, D.; JÓZEFIK, A.; KIEROŃCZYK, B.; et al. Insects - A Natural Nutrient Source for Poultry - A Review. **Annals of Animal Science**, v. 16, n. 2, p. 297–313, 2016.
- KRISTENSEN, T. N.; HOFFMANN, A. A.; OVERGAARD, J.; et al. Costs and benefits of cold acclimation in field-released *Drosophila*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, n. 1, p. 216–221, 2008.
- KUBRAK, O. I.; NYLIN, S.; FLATT, T.; NÄSSEL, D. R.; LEIMAR, O. Adaptation to

fluctuating environments in a selection experiment with *Drosophila melanogaster*. **Ecology and Evolution**, v. 7, n. 11, p. 3796–3807, 2017.

LYSYK, T. J. Effects of cold storage on development and survival of three species of parasitoids (Hymenoptera: Pteromalidae) of house fly, *Musca domestica* L. **Environmental Entomology**, v. 33, n. 4, p. 823–831, 2004.

MARTINS, D. J. Aspectos biológicos do parasitoide *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) em diferentes hospedeiros. **Dissertação** apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal a Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, p. 1–77, 2016.

MORAIS, W. C. DE C.; PLATA-RUEDA, A.; MARTÍNEZ, L. C.; et al. Potential of *Diaphania hyalinata* and *Tenebrio molitor* as alternative host for mass rearing of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). **Entomologia Generalis**, v. 39, n. 3–4, p. 285–294, 2019.

PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. Trichogramma in Brazil: feasibility of use after twenty years of research. **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 3, p. 271–281, 2004.

PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, T. V.; ZANUNCIO, J. C. Species of Lepidoptera Defoliators of Eucalyptus as New Host for the Parasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). , v. 51, n. April, p. 259–262, 2008.

PEREIRA, F.; ZANUNCIO, J.; SERRÃO, J.; PASTORI, P.; RAMALHO, F. S. Reproductive performance of *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) with previously refrigerated pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 69, n. 3, p. 865–869, 2009.

POURIAN, H. R.; TALAEI-HASSANLOUI, R.; ASHOURI, A.; LOTFALIZADEH, H. A.; NOZARI, J. Ontogeny and reproductive biology of *Diadegma semiclausum* (Hym.: Ichneumonidae), a larval endoparasitoid of Diamondback Moth, *Plutella xylostella* (Lep.: Plutellidae). **Arthropod Structure and Development**, v. 44, n. 1, p. 69–76, 2015. Elsevier Ltd.

RODRÍGUEZ-DIMATÉ, F. A.; PODEROSO, J. C. M.; RIBEIRO, R. C.; et al. *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) Parasitizing Pupae of the Passion Fruit Pest *Agraulis vanillae vanillae* (Lepidoptera: Nymphalidae). **Florida Entomologist**, v. 99, n. 1, p. 130–132, 2016.

SOYELU, O. J.; WALADDE, S. M. Effect of beebread on the reproductive performance of *Cotesia vestalis*. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v. 41, n. 2, p. 78–85, 2013.

TAVARES, A. W. D. S.; MASSON, M. V.; FERREIRA-FILHO, P. J.; LEONARDO, R.; SILVA, W. M. Parasitism of Lepidopteran Defoliators of Urban Plants by *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) **BioOne Complete**, v. 101, n. 3, p. 453–457, 2019.

THOMSON, L. J.; ROBINSON, M.; HOFFMANN, A. A. Field and laboratory evidence for acclimation without costs in an egg parasitoid. **Functional Ecology**, v. 15, n. 2, p. 217–221, 2001.

VAN LENTEREN, J. Controle de Qualidade de Agentes de Controle Biológico Produzidos Massalmente. **Health & Place - HEALTH PLACE**, n. March, 2010.

VAN LENTEREN, J. C.; BOLCKMANS, K.; KÖHL, J.; RAVENSBERG, W. J.; URBANEJA, A. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. **BioControl**, v. 63, n. 1, p. 39–59, 2018.

ZACHÉ, B.; COSTA, R. R. DA; ZANUNCIO, J. C.; WILCKEN, C. F. *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) Parasitizing Pupae of *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Florida Entomologist**, v. 96, n. 3, p. 1207–1208, 2013.

ZANUNCIO, J. C.; PEREIRA, F. F.; JACQUES, G. C.; TAVARES, M. T.; SERRÃO, J. E. *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae), a New Alternative Host to Rear the Pupae Parasitoid *Palmistichus elaeisis* Delvare; Lasalle (Hymenoptera: Eulophidae). **The Coleopterists Bulletin**, v. 62, n. 1, p. 64–66, 2008.

ZANUNCIO, J. C.; VINHA, G. L.; RIBEIRO, R. C.; et al. *Psorocampa denticulata* (Lepidoptera: Notodontidae) Pupae as an Alternative Host for *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). **Florida Entomologist**, v. 98, n. 3, p. 1003–1005, 2015.

2 SEGUNDA PARTE

ARTIGO 1 – Estratégias de armazenamento do hospedeiro alternativo *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) e do parasitoide *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) em diferentes temperaturas

(Este artigo após tradução será submetido à revista: Neotropical Entomology)

Joanina Gladenucci¹; Luciano de Souza²; Alexandre dos Santos³; Rosangela Cristina Marucci^{1*}

¹Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras – Minas Gerais, Brasil

²Departamento de Química, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras – Minas Gerais, Brasil

³ Instituto Federal do Mato Grosso, Laboratório de fitossanidade (FitLab), Cáceres – Mato Grosso – Brasil

*Correspondente: Rosangela Cristina Marucci, Laboratório de Controle Biológico, Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras – Minas Gerais, Brasil Email: rosangelac.marucci@ufla.br

1 **Resumo**

2

3 A utilização de técnicas de armazenamento para otimização da criação massal é um ponto
4 importante para o sucesso do uso de agentes de controle biológico, desde que a qualidade dos
5 insetos ao serem liberados seja assegurada. Assim, nossa pesquisa teve como objetivo
6 determinar a melhor relação temperatura e tempo de armazenamento de pupas parasitadas e não
7 parasitadas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) e de adultos de *Palmistichus*
8 *elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). Após o armazenamento foram avaliados a duração do
9 ciclo (ovo-adulto), porcentagem de parasitismo e emergência, número de descendentes ou
10 progênie, razão sexual e longevidade dos adultos (machos e fêmeas) de *P. elaeisis*. Quando as
11 pupas de *T. molitor* foram armazenadas e, a seguir, oferecidas ao parasitismo por *P. elaeisis*,
12 todas foram parasitadas e não houve efeito na razão sexual. Estimou-se a mínima temperatura
13 de 12,5 °C para o armazenamento das pupas do hospedeiro sem o comprometimento da duração
14 do ciclo de *P. elaeisis*. Houve menor taxa de emergência com o aumento do tempo de
15 armazenamento, sendo que a taxa de emergência e o número de descendentes diminuíram em
16 temperaturas mais baixas. Para longevidade dos adultos estimou-se em no máximo 17,5 dias o
17 tempo de armazenamento, sendo que as fêmeas sobreviveram por mais tempo que os machos.
18 Em relação ao armazenamento de pupas previamente parasitadas por *P. elaeisis*, a duração do
19 ciclo aumentou em baixas temperaturas, e se prolongou com o tempo de armazenamento.
20 Considerando-se a taxa de emergência, o tempo de armazenamento estimado foi de 16 dias e
21 para progênie a temperatura mínima de 17,5 °C por até 24 dias. A redução da temperatura de
22 armazenamento refletiu na redução do número de fêmeas, sendo estimado o máximo de 13 dias
23 de armazenamento considerando a longevidade dos adultos, as fêmeas sobreviveram por mais
24 dias que os machos. A mortalidade das fêmeas de *P. elaeises* armazenadas não foi afetada
25 quando mantidas em temperatura mais baixas e nos menores tempos de armazenamento, houve
26 prorrogação na duração do ciclo em temperaturas menores e com o aumento no tempo de
27 armazenamento. Levando em consideração as taxas de parasitismo e emergência, o número de
28 descendentes e a razão sexual, em temperaturas mais baixas e com a redução no tempo de
29 armazenamento os resultados foram mais favoráveis. Para longevidade de adultos o tempo
30 máximo de armazenamento foi de 13 dias, sendo que as fêmeas sobreviveram por mais tempo
31 que os machos. Assim, é possível obter um desempenho razoável do parasitoide fornecendo
32 pupas de *T. molitor* que foram armazenadas entre 15 e 20 °C por período de 10 a 15 dias. Da
33 mesma forma, é possível armazenar pupas de *T. molitor* parasitadas por *P. elaeisis* na
34 temperatura mínima de cerca de 15 °C por um período de 13 dias sem comprometimento do
35 desempenho do parasitoide. No caso do armazenamento das fêmeas de *P. elaeisis* a exposição
36 ao frio por até 6 dias à 15 °C parece não afetar seu desempenho reprodutivo.

37

38 **Palavras-chave:** Tempo de armazenamento. Emergência. Controle de qualidade

39

40

41

42

43

44

45

46 **Introdução**

47

48 O desenvolvimento de técnicas apropriadas de armazenamento em baixas temperaturas,
49 tanto do hospedeiro alternativo quanto do parasitoide, sem perda da sua capacidade reprodutiva,
50 se faz necessário em criações de inimigos naturais. Além da redução dos custos, o
51 armazenamento permite planejar a disponibilidade do agente de controle ao longo do ano (VAN
52 LENTEREN, 2010; VAN LENTEREN, et al., 2018) visando liberações inundativas durante a
53 época crítica de ocorrência de pragas agrícolas e florestais (CARVALHO et al., 2008;
54 COLINET; BOIVIN, 2011; FLOATE, 2002; PRATISSOLI et al., 2006). O armazenamento, à
55 baixas temperaturas, também se faz necessário durante o transporte antes da liberação do agente
56 visando evitar a emergência prévia de parasitoides e predadores. No entanto, muitas vezes essa
57 etapa é negligenciada dentro dos programas de controle biológico, embora seja decisiva para
58 o sucesso ou fracasso dos agentes de controle (MACEDO et al., 2006; QUEIROZ et al., 2017;
59 SILVA et al., 2019).

60 O endoparasitoide de pupas *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae),
61 disponível para comercialização desde 2022, é um parasitoide gregário e possui hábito
62 generalista, o que lhe permite inviabilizar pupas de diferentes espécies de lepidópteros e
63 coleópteros (BITTENCOURT; BERTI FILHO, 1999; CANDELÁRIA; WILCKEN, 2014;
64 DELVARE; LASALLE, 1993; GIL-SANTANA; TAVARES, 2006; MARTINS, 2016;
65 MORAIS et al., 2019; PEREIRA; ZANUNCIO; ZANUNCIO; 2008; PEREIRA et al., 2009;
66 RODRÍGUEZ-DIMATÉ et al., 2016; TAVARES et al., 2019; ZACHÉ et al., 2013;
67 ZANUNCIO et al., 2015; ZANUNCIO et al. 2008).

68 Em criações massais de *P. elaeisis* são utilizadas pupas do hospedeiro alternativo
69 *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) praga ocasional de grãos armazenados
70 (QINGFENG TANG, 2012), considerado hospedeiro padrão e econômico para criação massal
71 de vários inimigos naturais (CASTRO et al., 2015; FAVERO et al., 2013; PEREIRA, et al.,
72 2011; TORRES; ZANUNCIO; MOURA, 2006).

73 ZANUNCIO et al. (2008) comprovaram a eficiência da criação de *P. elaeisis*
74 sob pupas de *T. molitor*, obtendo taxas de parasitismo e emergência de 100 e 90,76%,
75 respectivamente. A duração do ciclo (ovo-adulto) foi de 23,42 dias, progênie de 70,07
76 indivíduos por pupas e razão sexual de 0,94. A longevidade média das fêmeas de 22,65 e 28,3
77 para machos. A densidades de 7:1 (fêmeas de *P. elaeisis* por pupa de *T. molitor*) foi considerada
78 mais adequada para viabilizar a criação massal desse parasitoide (MARTINS et al., 2019).

79 A temperatura considerada ideal para o desenvolvimento larval de *P. elaeisis* é 22 °C,
80 sendo que a 30 °C o ciclo biológico é paralisado, resultando na mortalidade no estágio de pré-
81 pupa (BITTENCOURT; BERTI FILHO, 2004). Dessa forma, os referidos autores apontam que
82 o limite térmico superior se encontra abaixo de 30 °C e o limite térmico inferior varia de 5,0 °C
83 a 7,5 °C.

84 PEREIRA et al. (2013) ao avaliarem os parâmetros biológicos das fêmeas de *P. elaeisis*
85 em pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) armazenadas à baixa
86 temperatura, observaram que o tempo de desenvolvimento a 12 °C variou de 19 a 24 dias, o
87 número de descendentes por pupa variou de 71 a 198 indivíduos. A razão sexual foi semelhante
88 nos diferentes tempos e a longevidade de fêmeas diminuiu com o prolongamento do período de
89 armazenamento.

90 No entanto, existem poucos estudos que abordam o armazenamento do endoparasitoide
91 *P. elaeisis* (PEREIRA et al., 2013; PEREIRA, et al., 2009; PEREIRA, et al., 2011) e seu
92 hospedeiro alternativo *T. molitor* (ARBAB, 2019). Em geral, a viabilidade dos hospedeiros e
93 desempenho dos inimigos naturais armazenados depende de dois fatores: temperatura e duração
94 do armazenamento (CHEN; LEOPOLD; HARRIS, 2008; LYSYK, 2004; PEREIRA, et al.,
95 2009; QUEIROZ et al., 2017).

96 Para avaliar as diferentes técnicas de armazenamento e possíveis efeitos negativos na
97 qualidade do inseto após o armazenamento em baixa temperatura, diversos fatores devem ser
98 considerados (COLINET; BOIVIN, 2011). Parâmetros biológico e reprodutivos relacionados à
99 capacidade de parasitismo (%), emergência do parasitoide (%) e longevidade do adulto (dias)
100 podem ser indicativos do desempenho do parasitoide após armazenamento (LEOPOLD, 1998;
101 FAGUNDES et al., 2013; PASTORI et al., 2013; TIAGO et al., 2019).

102 Com base no exposto nós hipotetizamos que é possível armazenar pupas não parasitadas
103 e parasitadas de *T. molitor* à baixa temperatura por tempos variáveis sem comprometer a
104 qualidade do agente biológico e que a pequena exposição das fêmeas de *P. elaeisis* recém-
105 emergidas a baixas temperaturas não compromete sua performance.

106 Assim, nossa pesquisa teve como objetivos i) determinar a melhor relação temperatura
107 e tempo de armazenamento de pupas parasitadas e não parasitadas de *T. molitor* que garante o
108 parasitismo e o desenvolvimento de *P. elaeisis* e ii) avaliar a viabilidade do armazenamento de
109 adultos de *P. elaeisis* após a emergência sem comprometer a performance reprodutiva do
110 parasitoide após o armazenamento.

111

112

113 **Material e Métodos**

114

115 **Insetos**

116

117 Para multiplicação de *P. elaeisis*, foram utilizadas pupas de *T. molitor* com até 48 horas
118 de formação. Adultos e larvas de *T. molitor* foram mantidos em recipientes plásticos (24×20×15
119 cm) e alimentados com dieta composta por farelo de trigo (97%) e levedo de cerveja (3%)
120 (ZAMPERLINE E ZANUNCIO, 1992; OLIVEIRA et al., 2004), fatias de chuchu *Sechium*
121 *edule* (Cucurbitaceae) como fonte de umidade e pão seco. A criação foi mantida em sala com
122 condições controladas de temperatura 25±2 °C, umidade relativa 70±10% e escotofase. Parte
123 das pupas obtidas foram utilizadas para manutenção da criação de *T. molitor* e o restante para
124 criação do parasitoide.

125 Adultos do parasitoide alimentados com mel puro foram mantidos em gaiolas de acrílico
126 (30×30×60 cm). As pupas foram expostas ao parasitismo, na proporção 7:1 (sete fêmeas para
127 uma pupa hospedeira) durante 48 horas, após o qual, foram acondicionadas em potes plásticos
128 (12×7,5 cm) até a emergência de adultos. A criação foi mantida em sala com condições
129 controladas de temperatura 25±2 °C, umidade relativa 70±10% e fotofase de 14 horas
130 (ZANUNCIO et al. 2008).

131

132 **Bioensaios**

133

134 Foram realizados os seguintes bioensaios: (i) armazenamento de pupas não parasitadas
135 do hospedeiro alternativo *T. molitor*; (ii) armazenamento de pupas de *T. molitor* parasitadas por
136 *P. elaeisis* com o parasitoide na fase de pupa e (iii) armazenamento de fêmeas adultas de *P.*
137 *elaieisis*. Todos bioensaios foram conduzidos em câmaras climáticas (ELETROLab®, modelo
138 EL 212) sendo que após cada período de armazenamento, os parasitoides foram transferidos
139 para sala em condições controladas 25±2 °C; 70±10% de umidade relativa (UR) e 14 horas de
140 fotofase.

141

142 **Bioensaio 1 - Armazenamento de pupas não parasitadas de *T. molitor***

143

144 O bioensaio foi conduzido em esquema fatorial 4×5, em delineamento inteiramente
145 casualizado e com 20 repetições compostas por uma pupa de *T. molitor*. Foram testadas três
146 temperaturas de armazenamento (0, 2,5 e 7,5 °C), a temperatura controle de 25 °C e cinco

147 períodos de armazenamento (5, 10, 15, 20 e 30 dias). As pupas foram individualizadas em tubo
148 de fundo chato (2,5×8,5 cm) vedado com *voil* preso com elástico e armazenadas em câmaras
149 climáticas sob condições controladas descritas anteriormente. Ao remover as pupas de *T.*
150 *molitor* do armazenamento, estas foram expostas ao parasitismo durante 24 h por fêmeas de *P.*
151 *elaeisis* com até 48 h de emergência na densidade 7:1. Durante o parasitismo, as fêmeas foram
152 alimentadas com uma gotícula de mel puro.

153 Neste bioensaio foram avaliados: duração do ciclo (ovo-adulto), porcentagem de
154 parasitismo e emergência, número de descendentes ou progênie e razão sexual. O parasitismo
155 foi avaliado pela interrupção do ciclo de *T. molitor* e alteração na coloração da pupa; a
156 emergência pelo completo desenvolvimento de ovo a adulto de *P. elaeisis* e a razão sexual pelo
157 produto da divisão do total de descendentes fêmeas pelo total de descendentes (macho + fêmea)
158 por pupa. A longevidade dos descendentes (F1) de cada tratamento foi medida ao acaso em 10
159 machos e 20 fêmeas.

160

161 **Bioensaio 2 - Armazenamento de pupas parasitadas de *T. molitor* por *Palmistichus elaeisis***

162

163 Utilizou-se esquema fatorial 4×12 em delineamento inteiramente casualizado, com 20
164 repetições. Foram testadas três temperaturas de armazenamento (10, 15 e 20 °C), a temperatura
165 controle de 25 °C e 12 tempos de armazenamento (a cada 48 h por 24 dias). Inicialmente, pupas
166 com até 48 horas foram parasitadas por *P. elaeisis* na densidade 7:1 por 24 horas. Após o
167 parasitismo as pupas foram mantidas em câmara climáticas (25±2 °C, 70±10% UR, 14 h
168 fotofase) até o 15º dia, quando foram armazenadas nas diferentes temperaturas. A cada 48 horas,
169 20 pupas foram removidas e individualizadas em tubo de fundo chato (2,5×8,5 cm) etiquetados
170 e vedados com *voil* preso por elástico. Os tubos foram mantidos em sala climáticas e submetidos
171 observações diárias, até a emergência do adulto do parasitoide quando foram avaliados
172 seguindo os mesmos critérios do bioensaio 1.

173

174 **Bioensaio 3 - Armazenamento de fêmeas adultas de *Palmistichus elaeisis***

175

176 Este bioensaio foi realizado em delineamento inteiramente casualizado em esquema
177 fatorial 4×12 e 20 repetições. Foram testadas três temperaturas de armazenamento (10, 15 e 20
178 °C), a temperatura controle de 25 °C e 12 tempos de armazenamento (a cada 48 h por 24 dias).
179 Cada repetição foi composta por sete fêmeas adultas com até 48 horas, individualizadas em
180 tubo de fundo chato (2,5×8,5 cm) sendo que a cada 48 h foi avaliada a mortalidade das fêmeas.

181 Para as fêmeas sobreviventes foram ofertadas pupas de *T. molitor* com até 48 horas durante 24
 182 horas para o parasitismo, após o qual as fêmeas foram removidas e as pupas individualizadas e
 183 mantidas em salas climáticas (25±2 °C, 70±10% UR, 14 h fotofase). Foram realizadas
 184 observações diárias até a emergência do parasitoide quando foram avaliados de acordo com
 185 critérios já descritos anteriormente.

186

187 **Análise estatística**

188

189 Os dados foram analisados utilizando-se o software R (R Core Team, 2023) e com o
 190 emprego dos pacotes car, DHARMA, lsmeans e glmmTMBs. Testes de Shapiro-Wilk e
 191 Bartlett ($\alpha = 0,05$) foram aplicados para verificação dos pressupostos de normalidade dos erros
 192 e homocedasticidade das variâncias, respectivamente, e como não assumiram distribuição
 193 normal, os dados foram analisados por meio de Modelos Lineares Generalizados Mistos
 194 (GLMM). Para cada variável resposta selecionou-se a função de ligação e distribuição de erro
 195 mais apropriada (Tabela 1), seguido de teste razão de verossimilhança e comparações pelo teste
 196 de médias marginais (lsmeans) ($p < 0,05$).

197

198 Tabela 1 – Função de ligação e distribuição de erro das variáveis resposta dos bioensaios
 199 empregados nos modelos lineares generalizados mistos (GLMM).

200

Variável resposta	Bioensaio	Função de ligação	Distribuição de erro
Desenvolvimento	1, 2, 3	Log	ziGamma
Emergência	1, 2	Logit	Binomial
Progênie	1	Log	Binomial negativa
Razão sexual	1, 2	Logit	Binomial
Longevidade	1	Log	nbinomial 2
Progênie	2	Log	ziGamma
Longevidade	2, 3	Log	Binomial negativa
Emergência	3	Log	binomial
Progênie	3	Log	Binomial negativa
Razão sexual	3	Log	Binomial
Mortalidade	3	Log	Binomial negativa
Parasitismo	3	Logit	Binomial

201

202 Resultados

203

204 Bioensaio 1 - Armazenamento de pupas não parasitadas

205

206 Todas as pupas de *T. molitor* foram parasitadas após o armazenamento. Para o tempo
207 de desenvolvimento (ovo-adulto) não houve interação entre a temperatura e o tempo de
208 armazenamento ($\chi^2 = 3,08, GL = 1, P = 0,07922$). No entanto, houve efeito da temperatura
209 ($\chi^2 = 53,22, GL = 1, P < 0,0001$), com prolongamento do ciclo nas menores temperaturas.
210 Estimou-se que temperaturas de armazenamento do hospedeiro abaixo de 12,5° C prolongam o
211 ciclo do parasitoide estimado em 20 dias a 25 °C (Figura 1A). Não houve efeito do tempo de
212 armazenamento ($\chi^2 = 1,02, GL = 1, P = 0,312$) sobre a duração do ciclo de desenvolvimento
213 de *P. elaeisis*.

214 Para emergência houve interação entre a temperatura e o tempo de armazenamento
215 ($\chi^2 = 11,45, GL = 1, P < 0,0001$). A taxa de emergência do parasitoide diminui nas pupas
216 de *T. molitor* armazenadas nas temperaturas mais baixas por mais tempo de armazenamento
217 (Figura 1B). Emergência entre 65 e 78% foram obtidas nas baixas temperaturas (0 a 7,5 °C) por
218 até 10 dias. Em relação à progênie houve interação entre temperatura e o tempo de
219 armazenamento ($\chi^2 = 10,37, GL = 1, P = 0,00127$), sendo que na medida em que a
220 temperatura diminuiu e prolongou o tempo de armazenamento, o número de descendentes
221 reduziu, ficando em torno de 50 indivíduos para temperaturas entre 15 e 20 °C por até 30 dias
222 (Figura 1C).

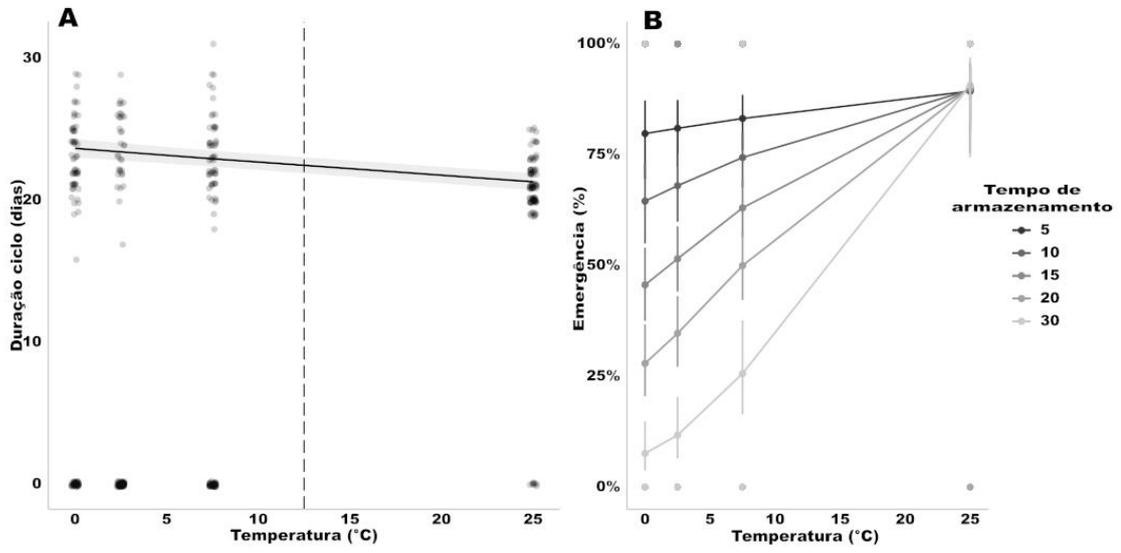
223 Em relação a razão sexual não houve interação entre as temperaturas de armazenamento
224 e o tempo ($\chi^2 = 0,02, GL = 1, P = 0,87427$) e nem efeito da temperatura ($\chi^2 = 0,02, GL =$
225 $1, P = 0,88703$) e tempo de armazenamento ($\chi^2 = 0,07, GL = 1, P = 0,77938$), não sendo
226 afetada pela relação temperatura \times tempo de armazenamento.

227 Para longevidade de adultos (machos e fêmeas) não houve interação entre temperatura
228 e tempo de armazenamento ($\chi^2 = 3,02, GL = 1, P = 0,08238$), porém houve efeito do tempo
229 de armazenamento ($\chi^2 = 42,75, GL = 1, P < 0,0001$), sendo que quanto maior o tempo de
230 armazenamento menor a longevidade. Estimou-se 17,5 dias como o tempo máximo que as
231 pupas podem ser armazenadas (Figura 1D). A longevidade dos machos estimada em 15,28 dias
232 foi menor que das fêmeas estimada em 17,69 dias (Figura 1E).

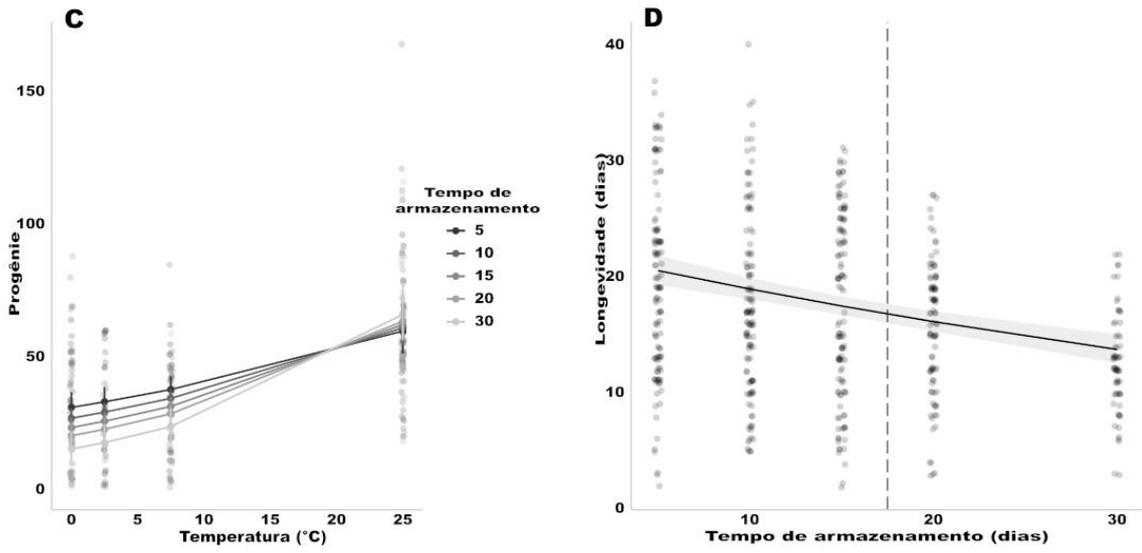
233

234

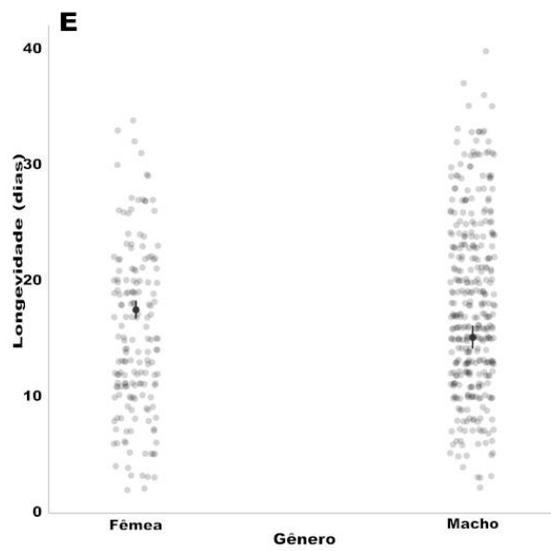
235



236



237



238

239 Figura 1 – Duração do ciclo (A), emergência (B), progênie (C), longevidade (D) e longevidade
240 entre machos e fêmeas (E) de *Palmistichus eleaeisis* após o parasitismo de pupas de *Tenebrio*
241 *molitor* armazenadas a 0; 2,5; 7,5 °C e a 25 °C (controle) por 5, 10, 15, 20 e 30 dias.
242

243 **Bioensaio 2 - Armazenamento de pupas parasitadas por *Palmistichus elaeisis***

244

245 Quando as pupas parasitadas de *T. molitor* foram armazenadas verificou-se interação
246 entre a temperatura e tempo de armazenamento ($\chi^2 = 802,61, GL = 1, P < 0,0001$) para
247 duração do ciclo ovo-adulto de *P. elaeisis*, com prolongamento em temperaturas mais baixas
248 (10, 15 e 20 °C) e à medida que o tempo de armazenamento aumentou (Figura 2A).

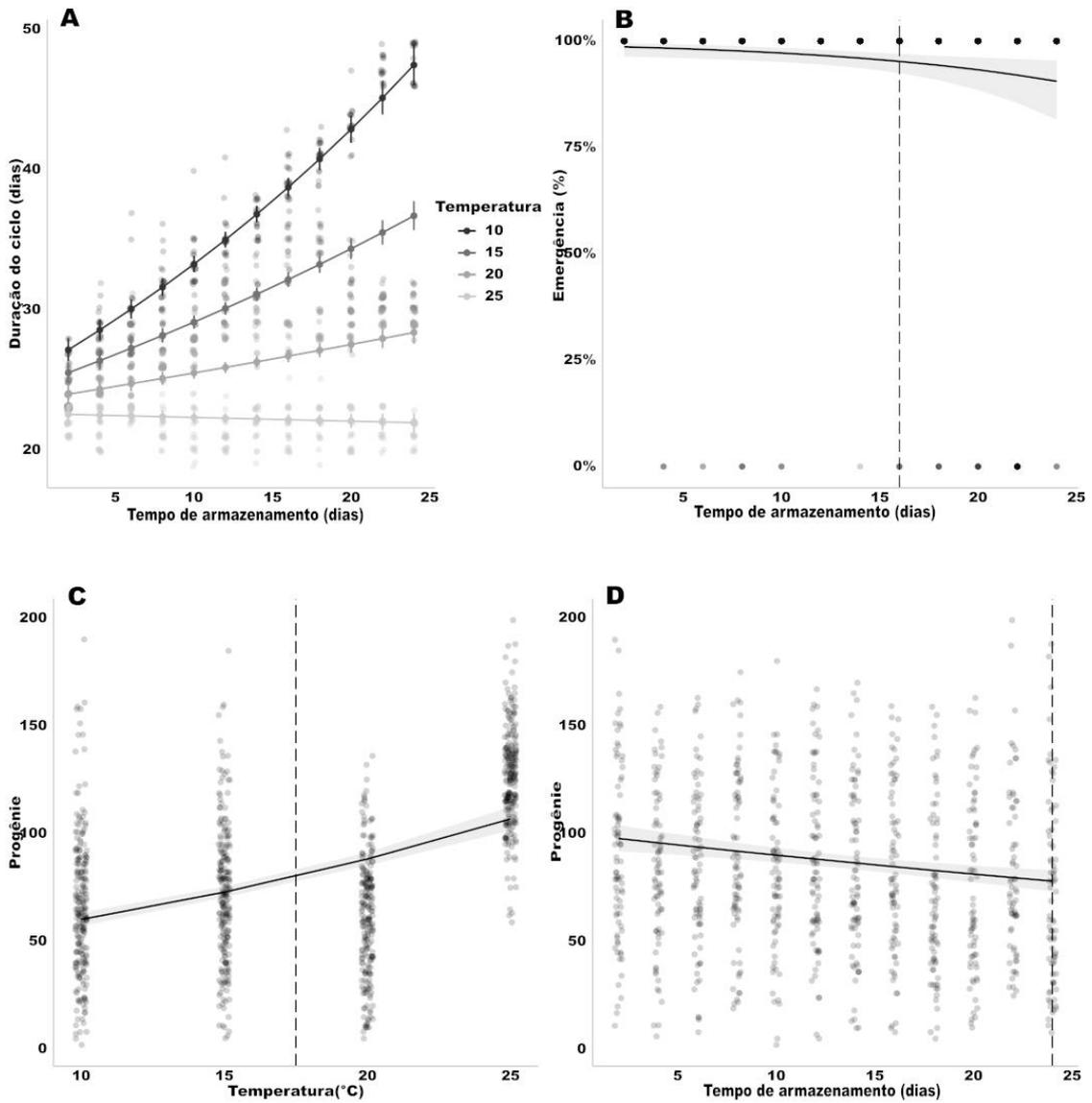
249 Para emergência não houve interação entre a temperatura e o tempo de armazenamento
250 ($\chi^2 = 0,50, GL = 1, P = 0,48086$), porém houve efeito do tempo de armazenamento ($\chi^2 =$
251 $6,90, GL = 1, P = 0,008$), quanto menor o tempo de armazenamento maior a taxa de
252 emergência, estimada em 100%, reduzindo após 16 dias de armazenamento das pupas de *T.*
253 *molitor* parasitadas por *P. elaeisis* (Figura 2B). Não houve efeito da temperatura ($\chi^2 =$
254 $0,99, GL = 1, P = 0,31852$).

255 Com relação à progênie não houve interação entre a temperatura e o tempo de
256 armazenamento ($\chi^2 = 3,29, GL = 1, P = 0,070$), porém, houve efeito da temperatura
257 ($\chi^2 = 201,35, GL = 1, P < 0,0001$) e do tempo de armazenamento ($\chi^2 = 17,88, GL =$
258 $1, P < 0,0001$). O número de descendentes foi menor nas temperaturas mais baixas, sendo que
259 para temperaturas de armazenamento menores que 17,5 °C houve redução no número chegando
260 em torno de 50 indivíduos a 10 °C (Figura 2C). Em relação ao tempo de armazenamento o maior
261 número de descendentes ocorreu no menor tempo de armazenamento das pupas parasitadas
262 (Figura 2D). Foi observada redução de cerca de 25% dos indivíduos após 24 dias de
263 armazenamento.

264 Para razão sexual não houve interação entre temperatura e tempo de armazenamento
265 ($\chi^2 = 0,50, GL = 1, P = 0,47941$), e nem efeito para do tempo de armazenamento ($\chi^2 =$
266 $2,84, GL = 1, P = 0,09178$). No entanto, houve efeito da temperatura ($\chi^2 = 7,20, GL =$
267 $1, P = 0,00729$), sendo observado menor número de fêmeas na medida em que a temperatura
268 de armazenamento das pupas parasitadas diminuiu (Figura 2E), principalmente abaixo de 15
269 °C.

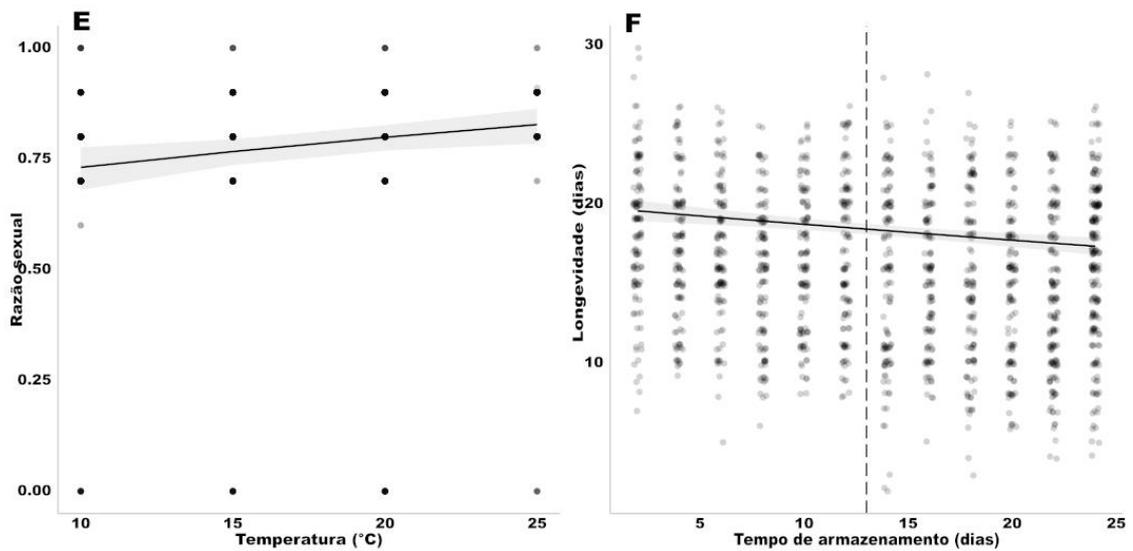
270 Para longevidade de machos e fêmeas houve interação entre o tempo de armazenamento
271 e o gênero ($\chi^2 = 14,72, GL = 1, P < 0,0001$). A longevidade estimada em torno de 20 dias
272 foi afetada para tempos de armazenamento superiores a 13 dias (Figura 2F). Houve interação

273 entre os gêneros (macho e fêmea) ($\chi^2 = 887,45, GL = 1, P < 0,0001$), sendo que as fêmeas
 274 sobreviveram mais dias que os machos, 18 e 12, respectivamente (Figura 2G).

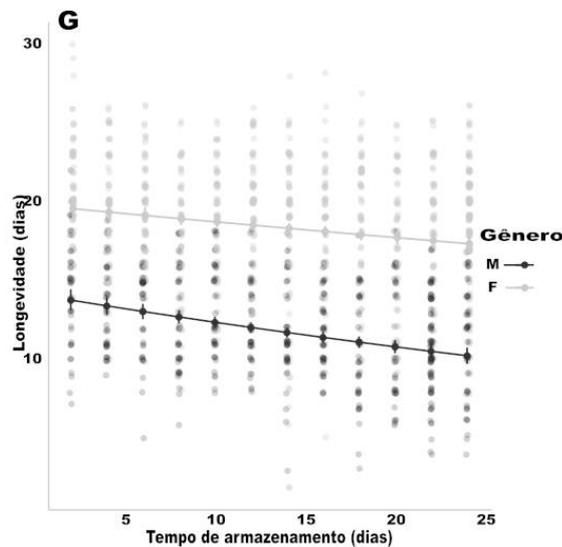


275

276



277



278

279 Figura 2 – Duração do ciclo (A), emergência (B), progênie (C) e (D), razão sexual (E),
 280 longevidade (F) e longevidade de machos e fêmeas (G) de *Palmistichus elaeisis* após
 281 armazenamento das pupas de *Tenebrio molitor* parasitadas a 10, 15 e 20 °C e a 25 °C (controle).

282

283 Bioensaio 3 - Armazenamento de fêmeas adultas de *Palmistichus elaeisis*

284

285 Constatou-se a mortalidade quando as fêmeas de *P. elaeisis* recém-emergidas foram
 286 armazenadas com interação entre as temperaturas e o tempo de armazenamento ($\chi^2 =$
 287 4,12, $GL = 1, P < 0,042$). A menor mortalidade ocorreu nas temperaturas mais baixas em
 288 menores tempo de armazenamento (Figura 3A). O armazenamento à baixa temperatura por no
 289 máximo 15 dias teve pouco impacto na mortalidade das fêmeas de *P. elaeisis*.

290 Para o parasitismo houve interação entre temperatura e o tempo de armazenamento
291 ($\chi^2 = 4,29, GL = 1, P = 0,03$), com redução no parasitismo das pupas após o armazenamento
292 das fêmeas de *P. elaeisis* em temperaturas mais baixas e por mais tempo de armazenamento
293 (Figura 3B). O armazenamento das fêmeas à baixa temperatura por 8 a 10 dias teve pouco
294 impacto no parasitismo, o qual ficou próximo de 100%, reduziu para 75% após 15 dias de
295 armazenamento e para 30% por volta de 20 dias de armazenamento.

296 Com relação a duração do ciclo houve interação entre a temperatura e tempo de
297 armazenamento ($\chi^2 = 15,69, GL = 1, P < 0,0001$), com prolongamento em temperaturas
298 mais baixas e na medida em que o tempo de armazenamento aumentou (Figura 3C),
299 principalmente para as temperaturas de 10 e 16 °C.

300 Para emergência houve interação entre a temperatura e o tempo de armazenamento
301 ($\chi^2 = 11,27, GL = 1, P = 0,001$), de forma que o armazenamento em menor temperatura
302 por pouco tempo garante maior emergência do parasitoide, próximo a 100% (Figura 3E). Para
303 o armazenamento do parasitoide a 10 °C por 15 dias a taxa de emergência reduziu para 50%.

304 Com relação ao número de descendentes houve interação entre a temperatura e o tempo
305 de armazenamento ($\chi^2 = 21,50, GL = 1, P < 0,0001$), sendo que a redução da temperatura e
306 aumento do tempo de armazenamento das fêmeas de *P. elaeisis* gera menor número de
307 descendentes (Figura 3F). Por até 6 dias de armazenamento em baixa temperatura houve pouco
308 impacto sobre a geração de descendentes.

309 Para a razão sexual houve interação entre a temperatura e o tempo de armazenamento
310 ($\chi^2 = 18,85, GL = 1, P < 0,0001$), sendo que após 6 dias o impacto é maior, principalmente
311 para as fêmeas armazenadas a 10 e 15 °C.

312 Para longevidade de adultos (macho e fêmeas) houve interação entre o tempo de
313 armazenamento e gênero ($\chi^2 = 8,85, GL = 1, P = 0,003$), sendo que, com o aumento do
314 tempo de armazenamento houve diminuição na longevidade dos adultos, principalmente após 13
315 dias de armazenamento das fêmeas (Figura 3H). As fêmeas sobreviveram por mais dias que os
316 machos, 17 e 12 respectivamente (Figura 3I).

317

318 **Discussão**

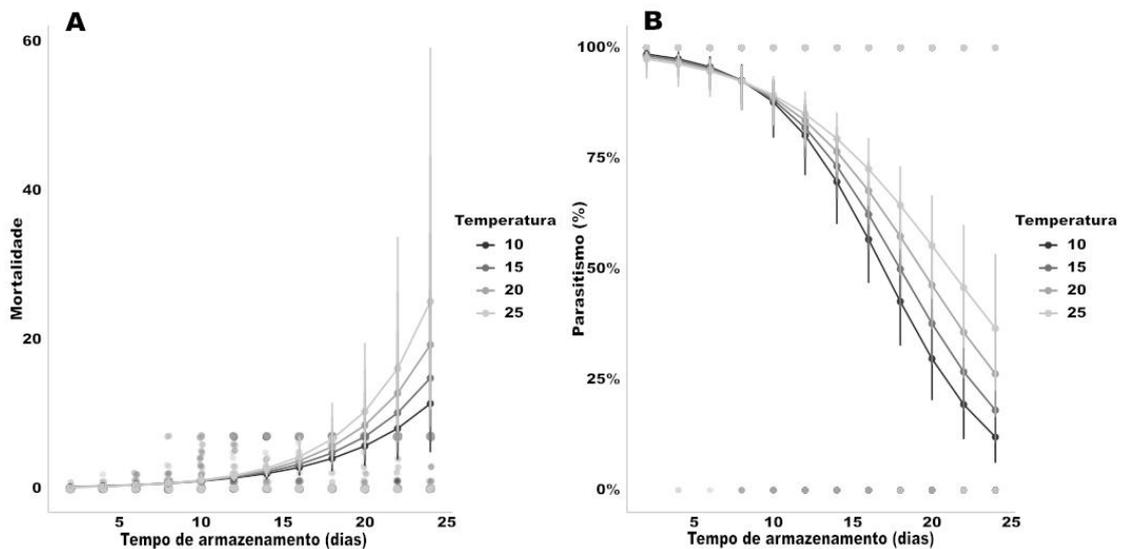
319

320 O armazenamento de parasitoides e hospedeiros pode ser considerado uma técnica útil
321 em criação massal (QUEIROZ et al., 2017). Além de diminuir custos de produção e aumentar
322 a vida útil dos inimigos naturais, contribuem para a reserva de insumos biológicos o que
323 compensa períodos de baixa produção ou demanda inesperada, e ainda permite liberações em

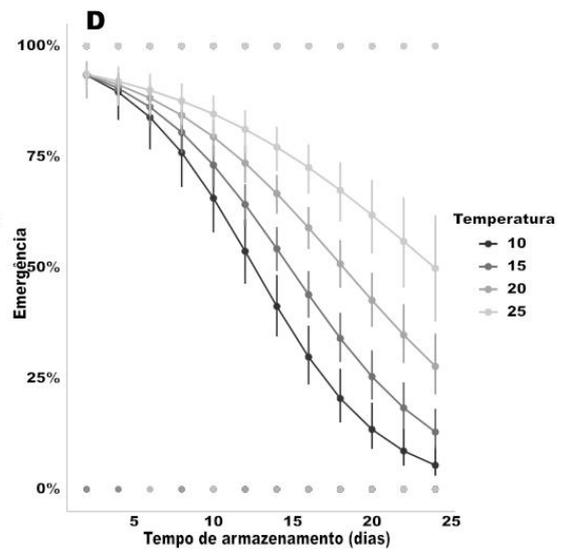
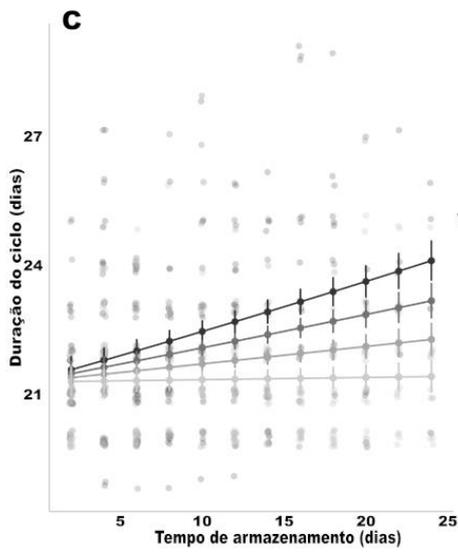
324 campo sincronizadas de inimigos naturais, em momentos críticos de ocorrência de insetos-
 325 pragas (CARVALHO et al., 2008; COLINET; BOIVIN, 2011; FLOATE, 2002; MCDONALD;
 326 KOK, 1990; PRATISSOLI et al., 2006; VAN LENTEREN, J. C., 2010; VAN LENTEREN, J.
 327 C. et al., 2018).

328 No entanto, a viabilidade e qualidade do hospedeiro ou do insumo biológico após o
 329 armazenamento é essencial (PEREIRA, et al., 2009). Neste trabalho, verificamos que a
 330 combinação de baixa temperatura e prolongamento do tempo de armazenamento das pupas de
 331 *T. molitor* interferem em parâmetros de qualidade de *P. elaeisis* produzido: a taxa de
 332 emergência, progênie e longevidade de fêmeas, porém não afetam a razão sexual. Nossos
 333 resultados indicam que é possível um bom desempenho do parasitoide quando as pupas do
 334 hospedeiro alternativo são armazenadas em temperatura entre 15 e 20 °C por período curto de
 335 10 a 15 dias. Estimamos que a temperatura inferior a 12,5 °C prolongam a duração do ciclo do
 336 parasitoide e que 17,5 dias é o prazo máximo de armazenamento sem afetar a longevidade dos
 337 adultos de *P. elaeisis*.

338



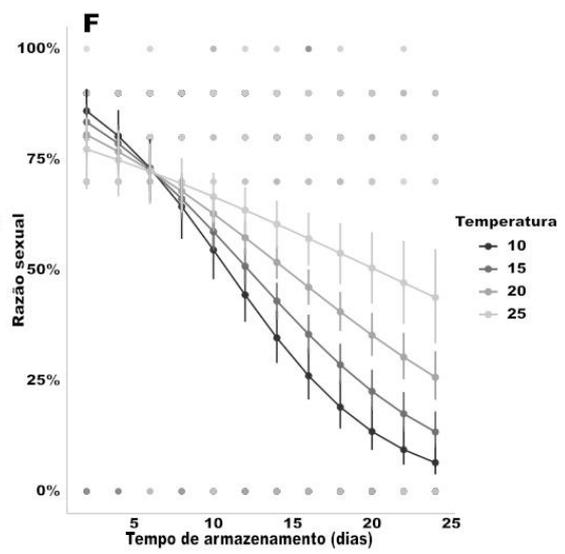
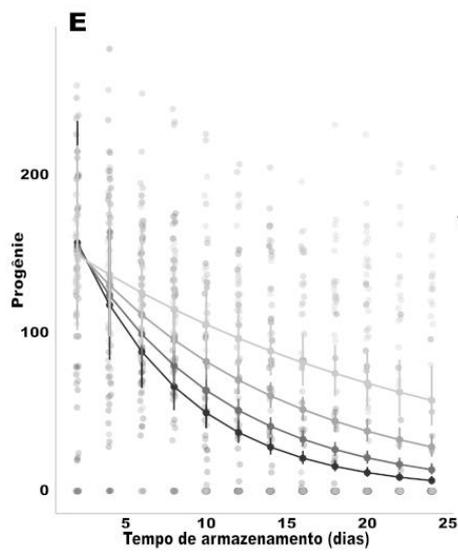
339



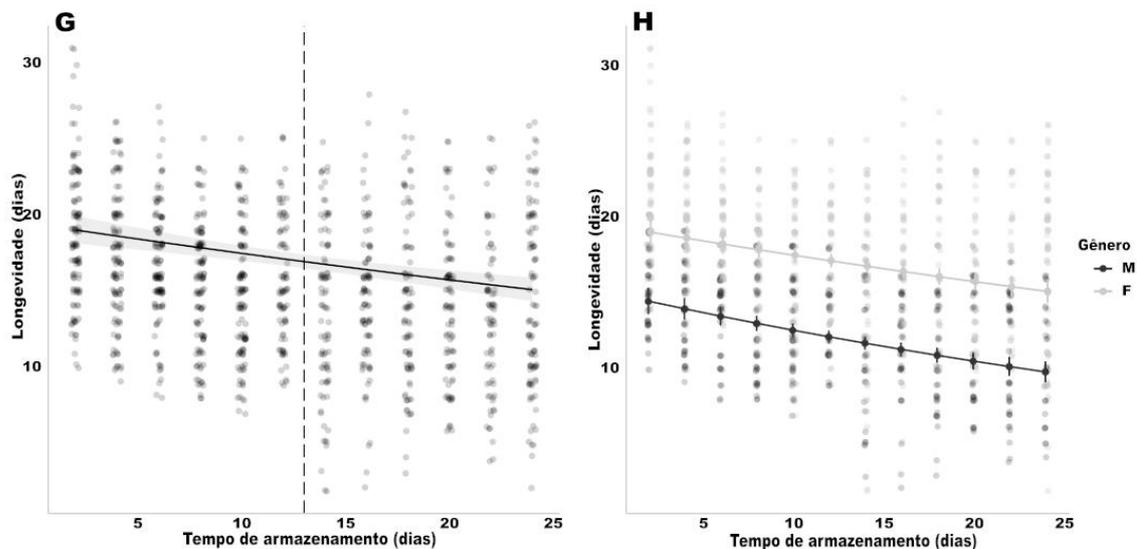
340

341

342



343



344

345 Figura 3 – Mortalidade (A), parasitismo (B), duração do ciclo (C), emergência (D), progênie
 346 (E), razão sexual (F) longevidade (G) e longevidade de machos e fêmeas (H) de *Palmistichus*
 347 *elaeisis* cujas fêmeas foram armazenadas a 10; 15; 20 °C e 25 °C (controle) a cada 48 h por até
 348 24 dias.

349

350 A maioria dos trabalhos desenvolvidos com *P. elaeisis* estão limitadas apenas a
 351 qualidade das pupas dos diferentes hospedeiros para o parasitismo (PEREIRA et al., 2013;
 352 PEREIRA, et al., 2009; PEREIRA, et al., 2011). Além disso, há ausência de pesquisas
 353 relacionada ao armazenamento utilizando *T. molitor*, sendo que a maioria destas utilizam pupas
 354 de Lepidopteras. Dessa forma, considerando *T. molitor* como hospedeiro alternativo, nossos
 355 resultados são inéditos, principalmente, em relação as estimativas da mínima temperatura de
 356 armazenamento das pupas para o desenvolvimento do parasitoide e tempo máximo de
 357 armazenamento das pupas sem comprometer a longevidade dos adultos de *P. elaeisis*.

358 Estudos realizados por PEREIRA et al. (2009) utilizando pupas de *Bombyx mori*
 359 (Lepidoptera: Bombycidae) indicaram que o armazenamento pode ser mantido a 10 °C, por até
 360 15 dias e posteriormente, utilizado para o parasitismo de *P. elaeisis*. Para o armazenamento das
 361 pupas de *A. gemmatalis* o melhor resultado para o posterior parasitismo foi para 6 dias à 12 °C
 362 (PEREIRA et al., 2013).

363 Para outro parasitoide de pupas, *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae),
 364 embora a taxa de parasitismo das pupas de *A. gemmatalis* tenha sido superior a 90% na maioria
 365 das combinações tempo × temperatura, verificou-se que a taxa de emergência, a progênie e a
 366 longevidade de machos e fêmeas da geração F1 foi reduzida com o armazenamento a 0 e 5 °C
 367 (PASTORI et al., 2013).

368 Quando se trata de armazenamento de pupas já parasitadas, recomenda-se que se
369 aguarde os parasitoides atingirem a fase de pupa dentro do hospedeiro para efetuar o
370 armazenamento. A pupa é uma fase imóvel e melhor protegida de ser impactada por manuseio.
371 Apesar da imobilidade, esse estágio é metabolicamente muito ativo e os tecidos larvais sofrem
372 histólise e são remontados na forma adulta. Portanto, é comum observar tolerância ao
373 armazenamento a frio variável no estágio de pupa (COLINET; BOIVIN, 2011). O
374 armazenamento prolongado do inimigo natural na fase pupal pode reduzir a emergência de
375 parasitoides devido aos efeitos negativos na nutrição das pupas, respiração insuficiente ou
376 mudanças na dureza e espessura das estruturas hospedeiras, que pode prejudicar direta ou
377 indiretamente a sobrevivência do parasitoide e emergência (FOERSTER; DOETZER, 2006).

378 Estudos envolvendo armazenamento de hospedeiros já parasitados à baixa temperatura
379 tem que estar atrelados ao controle de qualidade do agente de controle armazenado (VAN
380 LENTEREN, 2010; VAN LENTEREN, et al., 2018). Verificamos que a taxa de emergência foi
381 afetada apenas pelo tempo de armazenamento, o número de descendentes pela temperatura e
382 tempo de armazenamento e a longevidade pelo tempo de armazenamento. Apesar da
383 combinação baixa temperaturas × tempo de armazenamento, afetarem parâmetros indicativos
384 da qualidade do *P. elaeisis* produzido como taxa de emergência, progênie, razão sexual e
385 longevidade dos adultos, as pupas de *T. molitor* parasitadas por *P. elaeisis* podem ser
386 armazenadas na faixa de temperatura de 15 a 17,5 °C por até 13 dias sem comprometer de forma
387 considerável o desempenho do parasitoide.

388 PASTORI et al. (2013) ao armazenarem pupas de *A. gemmatalis* parasitadas por *T.*
389 *diatraeae* com o parasitoide no estágio de pupa observaram que a taxa de emergência do
390 parasitoide nas pupas armazenadas a 0 °C por um dia e 5 °C por três dias foi semelhante a obtido
391 tratamento controle (25 °C), assim como a progênie não foi afetada em 5 °C para pupas
392 armazenadas por um dia. A temperatura não afetou a duração do ciclo de vida de *T. diatraeae*,
393 sendo as médias semelhantes ao controle. A longevidade dos machos foi menor em pupas
394 armazenadas por três dias a 0 e 5 °C quando comparada com o controle e a longevidade das
395 fêmeas foi inferior ao controle em todas as combinações. Dessa forma, os autores recomendam
396 armazenar a frio pupas de *A. gemmatalis* contendo o estágio imaturo (pupa) do parasitoide no
397 seu interior por apenas 24 h.

398 O armazenamento de insetos adultos geralmente leva a uma redução maior e mais rápida
399 no condicionamento físico do que o armazenamento dos estágios imaturos (VAN LENTEREN
400 E TOMMASINI 2003). Ao armazenamos fêmeas adultas de *P. elaeisis* em baixa temperatura
401 houve comprometimento do seu desempenho, na medida em que o tempo de armazenamento

402 aumentou. Para todos os parâmetros avaliados: mortalidade, parasitismo, emergência, progênie
403 e razão sexual houve interação entre as temperaturas e tempos de armazenamento. Nossos
404 resultados indicaram que o armazenamento das fêmeas de *P. elaeisis* à baixas temperaturas
405 poder ser feito por até 6 dias sem comprometer seus principais parâmetros biológicos.

406 Resultados similares foram obtidos por SILVA et al. (2019) ao armazenarem adultos do
407 parasitoide de ovos de percevejo *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygastridae) a 5 °C por
408 2, 4 e 6 dias. Os autores verificaram que durante seis dias de armazenamento a sobrevivência
409 de machos e fêmeas, a taxa de parasitismo e emergência e a razão sexual foram similares às
410 obtidas no tratamento controle e não houve efeito na longevidade das fêmeas. Para a geração
411 seguinte (F1), a taxa emergência e a razão sexual por 6 dias de armazenamento se mantiveram
412 similares ao tratamento controle, porém a duração do ciclo prolongou em comparação ao
413 tratamento controle.

414 A sobrevivência de adultos do parasitoide de ovos de Lepidopteras *Telenomus remus*
415 (Hymenoptera: Platygastridae) armazenados a 5 e 10 °C não foi impactada por até 4 dias de
416 armazenamento, assim como a taxa de parasitismo. A mortalidade dos machos e fêmeas
417 aumentaram após 6 e 8 dias de armazenamento, respectivamente. As fêmeas apresentaram mais
418 tolerância ao armazenamento, com aumento da mortalidade apenas quando armazenadas a 5 °C
419 por 8 dias, sendo que a capacidade de parasitismo das fêmeas sobreviventes não foi afetada
420 pelo armazenamento (QUEIROZ et al., 2017).

421 Uma síntese dos resultados obtidos em relação ao armazenamento de pupas do
422 hospedeiro e do adulto do parasitoide, nos permite concluir que há efeito das diferentes
423 combinações de baixa temperatura e tempo de armazenamento das pupas de *T. molitor*
424 parasitadas e não parasitadas e sobre as fêmeas adultas de *P. elaeisis*. No entanto, é possível
425 obter um desempenho razoável do parasitoide criado em pupas que foram armazenadas entre
426 15 e 20 °C por período de 10 a 15 dias. Da mesma forma, é possível armazenar pupas de *T.*
427 *molitor* parasitadas por *P. elaeisis* na temperatura mínima cerca de 15 °C por um período de 13
428 dias e utilizar para o desenvolvimento do parasitoide sem comprometimento do seu
429 desempenho. No caso da exposição ao frio das fêmeas de *P. elaeisis* por curto período, há pouco
430 efeito sobre o desempenho reprodutivo, principalmente, em temperatura de 15 °C por até seis
431 dias.

432

433 **Referências**

434

435 ARBAB, A. Effect of Temperature on Pupal Development in Meal Worm *Tenebrio Molitor*

- 436 L. **Indian Journal of Entomology**, v. 81, n. 4, p. 640–646, 2019.
- 437 BITTENCOURT, M. A. L.; BERTI FILHO, E. Preferência de *Palmistichus elaeisis* por pupas
438 de diferentes lepidópteros praga. **Scientia Agricola**, v. 56, n. 4, p. 1281–1283, 1999.
- 439 BITTENCOURT, M. A. L.; BERTI FILHO, E. Exigências térmicas para o desenvolvimento
440 de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera, Eulophidae) em pupas de cinco espécies de
441 lepidópteros. **Iheringia. Série Zoologia**, v. 94, n. 3, p. 321–323, 2004.
- 442 BITTENCOURT, M. A. L.; BERTI FILHO, E. Desenvolvimento dos estágios imaturos de
443 *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera, Eulophidae) em pupas de
444 Lepidoptera. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 48, n. 1, p. 65–68, 2004.
- 445 CANDELÁRIA, M. C.; WILCKEN, C. F. *Palmistichus elaeisis* (Delvare & LaSalle, 1993)
446 (Hymenoptera: Eulophidae), possible agent for the biological control of *Urbanus proteus*
447 (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Hesperiiidae). **SHILAP Revista de Lepidopterología**, v. 42,
448 n. 167, p. 379–383, 2014.
- 449 CARVALHO, J. S.; VACARI, A. M.; BORTOLI, S. A.; VIEL, S. R. Efeito do
450 armazenamento de pupas de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae)
451 em baixa temperatura. **Bol. San. Veg. Plagas**, v. 34, p. 21–26, 2008.
- 452 CASTRO, A. A.; DE S TAVARES, W.; COLLATZ, J.; et al. Antibiosis of tomato, *Solanum*
453 *lycopersicum* (Solanaceae) plants to the asopininae predator *Supputius cincticeps* (Heteroptera:
454 Pentatomidae). **Invertebrate Survival Journal**, v. 12, n. July, p. 179–187, 2015.
- 455 CHEN, W. L.; LEOPOLD, R. A.; HARRIS, M. O. Cold storage effects on maternal and
456 progeny quality of *Gonatocerus ashmeadi* Girault (Hymenoptera: Mymaridae). **Biological**
457 **Control**, v. 46, n. 2, p. 122–132, 2008.
- 458 COLINET, H.; BOIVIN, G. Insect parasitoids cold storage: A comprehensive review of
459 factors of variability and consequences. **Biological Control**, v. 58, n. 2, p. 83–95, 2011.
- 460 DELVARE, G.; LASALLE, J. A new genus of tetrastichinae (Hymenoptera: Eulophidae)
461 from the neotropical region, with the description of a new species parasitic on key pests of oil
462 palm. **Journal of Natural History**, v. 27, n. 2, p. 435–444, 1993.
- 463 FAVERO, K.; FAGUNDES PEREIRA, F.; NONATO DE OLIVEIRA, H.; COLA
464 ZANUNCIO, J. *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) as an alternative host for the
465 parasitoid *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae). **Revista Colombiana de**
466 **Entomologia**, v. 39, n. 1, p. 47–48, 2013.
- 467 FLOATE, K. D. Production of filth fly parasitoids (Hymenoptera: Pteromalidae) on fresh and
468 on freeze-killed and stored house fly pupae. **Biocontrol Science and Technology**, v. 12, n. 5,
469 p. 595–603, 2002.
- 470 FOERSTER, L. A.; DOETZER, A. K. Cold storage of the egg parasitoids *Trissolcus basal*
471 *is* (Wollaston) and *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae). **Biological**
472 **Control**, v. 36, n. 2, p. 232–237, 2006.
- 473 GIL-SANTANA, H. R.; TAVARES, M. T. *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle
474 (Hymenoptera: Eulophidae): a new Delvarare parasitoid of *Dione juno juno* (Cramer)
475 (Lepidoptera: Nymphalidae) parasitoid. **Scientific Communication**, v. 48, n. 1, p. 891–892,
476 2006.

- 477 LEOPOLD, AR (1998) Cold Storage of Insects for Integrated Pest Management. In: Hallman
478 GJ, Denlinger DL (eds) Temperature sensitivity in insects and application in integrated pest
479 management. **Westview Press**, Boulder, pp 235–267
- 480 LYSYK, T. J. Effects of cold storage on development and survival of three species of
481 parasitoids (Hymenoptera: Pteromalidae) of house fly, *Musca domestica* L. **Environmental**
482 **Entomology**, v. 33, n. 4, p. 823–831, 2004.
- 483 MACEDO, L. P. M.; MARACAJÁ, P. B.; BEZERRA, C. E. S. Técnicas De Armazenamento
484 De Ovos De Insetos Para Programas De Controle Biológico. **Revista Verde de Agroecologia**
485 **e Desenvolvimento Sustentável**, v. 1, n. 1, p. 01–09, 2006.
- 486 MARTINS, D. J. Aspectos biológicos do parasitoide *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera:
487 Eulophidae) em diferentes hospedeiros. , p. 1–77, 2016.
- 488 MARTINS, D. J.; SANTOS, M. M. DOS; SALES, T. S.; et al. Do parasitoid density and host
489 age affect the parasitism of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae)? **Arquivos do**
490 **Instituto Biológico**, v. 86, p. 1–6, 2019.
- 491 MCDONALD, R. C.; KOK, L. T. Post Refrigeration Viability of *Pteromalus puparum*
492 (Hymenoptera: Pteromalidae) Prepupae within Host Chrysalids. **Journal of Entomological**
493 **Science**, v. 25, n. 3, p. 409–413, 1990.
- 494 MORAIS, W. C. DE C.; PLATA-RUEDA, A.; MARTÍNEZ, L. C.; et al. Potential of
495 *Diaphania hyalinata* and *Tenebrio molitor* as alternative host for mass rearing of *Palmistichus*
496 *elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). **Entomologia Generalis**, v. 39, n. 3–4, p. 285–294,
497 2019.
- 498 OLIVEIRA, H. N.; PRATISSOLI, D.; PEDRUZZI, E. P.; ESPINDULA, M. C. Development
499 of the predator *Podisus nigrispinus* fed on *Spodoptera frugiperda* and *Tenebrio molitor*.
500 **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 39, n. 10, p. 947–951, 2004.
- 501 PASTORI, P. L.; ZANUNCIO, J. C.; PEREIRA, F. F.; et al. Temperatura e tempo de
502 refrigeração de pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) afetam parâmetros
503 biológicos de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae)? **Semina: Ciências**
504 **Agrárias**, v. 34, n. 4, p. 1493–1508, 2013.
- 505 PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, T. V.; ZANUNCIO, J. C. Species of Lepidoptera Defoliators
506 of Eucalyptus as New Host for the Parasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera :
507 Eulophidae). , v. 51, n. April, p. 259–262, 2008.
- 508 PEREIRA, F.; ZANUNCIO, J.; OLIVEIRA, H.; et al. Thermal requirements and estimate
509 number of generations of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) in different
510 Eucalyptus plantations regions. **Brazilian Journal of Biology**, v. 71, n. 2, p. 431–436, 2011.
- 511 PEREIRA, F.; ZANUNCIO, J.; SERRÃO, J.; PASTORI, P.; RAMALHO, F. S. Reproductive
512 performance of *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) with
513 previously refrigerated pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). **Brazilian**
514 **Journal of Biology**, v. 69, n. 3, p. 865–869, 2009.
- 515 PEREIRA, F.; ZANUNCIO, J. C.; OLIVEIRA KASSAB, S.; et al. Biological characteristics
516 of *Palmistichus elaeisis* Delvare & Lasalle (Hymenoptera: Eulophidae) on refrigerated
517 pupae of *Anticarsia gemmatalis* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae). **Chilean journal of**
518 **agricultural research**, v. 73, n. 2, p. 08–09, 2013.

- 519 PRATISSOLI, D.; REIS, E. F. DOS; ZAGO, H. B.; PASTORI, P. L.; TAMANHONI, T.
 520 Biologia e exigências térmicas de cinco linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley
 521 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) criadas em ovos de *Tuta absoluta* (Meyrick)
 522 (Lepidoptera: Gelechiidae). **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1671–1677, 2006.
- 523 QINGFENG TANG. Regulatory effects of *Tenebrio molitor* Linnaeus on immunological
 524 function in mice. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 33, p. 8348–8352, 2012.
- 525 QUEIROZ, A. P.; BUENO, A. F.; POMARI-FERNANDES, A.; et al. Low Temperature
 526 Storage of *Telenomus remus* (Nixon) (Hymenoptera: Platygasteridae) and its Factitious Host
 527 *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae). **Neotropical Entomology**, v. 46, n.
 528 2, p. 182–192, 2017.
- 529 RODRÍGUEZ-DIMATÉ, F. A.; PODEROSO, J. C. M.; RIBEIRO, R. C.; et al. *Palmistichus*
 530 *elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) Parasitizing Pupae of the Passion Fruit Pest *Agraulis*
 531 *vanillae vanillae* (Lepidoptera: Nymphalidae). **Florida Entomologist**, v. 99, n. 1, p. 130–132,
 532 2016.
- 533 SILVA, G. V.; BUENO, A. F.; FAVETTI, B. M.; NEVES, P. M. O. J. Use of Low
 534 Temperature Storage to Preserve Host and Parasitoid to Improve the Rearing of *Telenomus*
 535 *podisi* (Hymenoptera: Platygasteridae) on *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) Eggs.
 536 **Neotropical Entomology**, v. 48, n. 1, p. 126–135, 2019.
- 537 TAVARES, A. W. D. S.; MASSON, M. V.; FERREIRA-FILHO, P. J.; LEONARDO, R.;
 538 SILVA, W. M. Parasitism of Lepidopteran Defoliators of Urban Plants by *Palmistichus*
 539 *elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) Parasitism of lepidopteran defoliators of urban plants by
 540 *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). , v. 101, n. 3, p. 453–457, 2019.
- 541 TIAGO, E. F.; PEREIRA, F. F.; KASSAB, S. O.; et al. Biological Quality of *Tetrastichus*
 542 *Howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) Reared with *Tenebrio molitor* (Coleoptera:
 543 Tenebrionidae) Pupae after Cold Storage. **Florida Entomologist**, v. 102, n. 3, p. 571–576,
 544 2019.
- 545 TORRES, J. B.; ZANUNCIO, J. C.; MOURA, M. A. The predatory stinkbug *Podisus*
 546 *nigrispinus*: Biology, ecology and augmentative releases for lepidopteran larval control in
 547 Eucalyptus forests in Brazil. **CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary**
 548 **Science, Nutrition and Natural Resources**, v. 1, n. June 2006, 2006.
- 549 VAN LENTEREN, J. C.; BOLCKMANS, K.; KÖHL, J.; RAVENSBERG, W. J.;
 550 URBANEJA, A. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new
 551 opportunities. **BioControl**, v. 63, n. 1, p. 39–59, 2018.
- 552 VAN LENTEREN, J. Controle de Qualidade de Agentes de Controle Biológico Produzidos
 553 Massalmente. **Health & Place - HEALTH PLACE**, , n. March, 2010.
- 554 VAN LENTEREN, J. C.; TOMMASIN, M. G. Mass production, storage, shipment and
 555 quality control of natural enemies, In: **Pest integrated**, 276-294, 2003.
- 556 ZACHÉ, B.; COSTA, R. R. DA; ZANUNCIO, J. C.; WILCKEN, C. F. *Palmistichus elaeisis*
 557 (Hymenoptera: Eulophidae) Parasitizing Pupae of *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera:
 558 Pyralidae). **Florida Entomologist**, v. 96, n. 3, p. 1207–1208, 2013.
- 559 ZANUNCIO, J. C.; PEREIRA, F. F.; JACQUES, G. C.; TAVARES, M. T.; SERRÃO, J. E.
 560 *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae), a New Alternative Host to Rear the

- 561 Pupae Parasitoid *Palmistichus elaeisis* Delvare & Lasalle (Hymenoptera: Eulophidae).
562 **The Coleopterists Bulletin**, v. 62, n. 1, p. 64–66, 2008.
- 563 ZANUNCIO, J. C.; VINHA, G. L.; RIBEIRO, R. C.; et al. *Psorocampa denticulata*
564 (Lepidoptera: Notodontidae) Pupae as an Alternative Host for *Palmistichus elaeisis*
565 (Hymenoptera: Eulophidae). **Florida Entomologist**, v. 98, n. 3, p. 1003–1005, 2015.
- 566 ZAMPERLINE B., ZANUNCIO J. C. 1992. Influência da alimentação de *Tenebrio molitor* L.
567 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae) no desenvolvimento ninfal de *Podisus connexivus*
568 Bergroth. 1891 (Hemiptera: Pentatomidae). **Revista Árvore** 16: 224–230.
- 569
- 570

ARTIGO 2 Aptidão de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) mantido em regime térmico flutuante

(Este artigo após tradução será submetido à revista: Biologic control)

Joanina Gladenucci¹; Luciano de Souza²; Alexandre dos Santos³; Rosangela Cristina Marucci^{1*}

¹Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras – Minas Gerais, Brasil

²Departamento de Química, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras – Minas Gerais, Brasil

³ Instituto Federal do Mato Grosso, Laboratório de fitossanidade (FitLab), Cáceres – Mato Grosso – Brasil

*Correspondente: Rosangela Cristina Marucci, Laboratório de Controle Biológico, Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras – Minas Gerais, Brasil Email: rosangelac.marucci@ufla.br.

1 **Resumo**

2

3 Os regimes térmicos flutuantes simulando condições naturais de temperatura em biofábricas
4 são ferramentas utilizadas para assegurar a qualidade de insetos produzidos em larga escala.
5 Assim, durante sete gerações nós investigamos se o Regime Térmico Flutuante (RTF) poderia
6 afetar o desempenho do endoparasitoide pupal *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera:
7 Eulophidae) quando comparado o Regime Térmico Constante (RTC), comumente utilizado em
8 biofábricas. Inicialmente, uma população do parasitoide foi estabelecida em RTC exposta
9 continuamente a 25 ± 2 °C e outra em RTF exposta a 30 ± 2 °C durante o dia e 20 ± 2 °C à noite,
10 as quais foram utilizadas para determinar: i) desempenho de *P. elaeisis*; ii) condicionamento
11 físico das fêmeas e; iii) tolerância térmica de fêmeas. Nossos resultados indicaram que a
12 oscilação térmica de 10 °C em que a população foi exposta em RTF não se mostrou adequada
13 para melhorar a adaptação e vigor de *P. elaeisis* no transcorrer das gerações, sendo que, a partir
14 da quinta geração a população em RTF degenerou. Características biológicas que indicam o
15 desempenho padrão do parasitoide como duração do ciclo, emergência e progênie foram
16 afetadas em condições de RTF. Além disso, algumas características foram impactadas no
17 transcorrer das gerações, por exemplo, as fêmeas submetidas ao condicionamento físico
18 apresentaram maior longevidade nas três primeiras gerações, assim como maior fecundidade
19 acumulada. Também houve considerável redução na fertilidade diária e acumulada no RTF a
20 partir da terceira geração. Ao medirmos a tolerância térmica das fêmeas de *P. elaeisis* mantidas
21 até cinco gerações em RTF e, submetidas ao parasitismo em condições de 15, 20, 30 e 35 °C,
22 observamos alta mortalidade das fêmeas submetidas a partir de 30 °C e comprometimento da
23 performance reprodutiva do parasitoide em temperaturas de 15 e 20 °C no transcorrer das
24 gerações. Para população mantida em RTF a partir da G3, a aptidão de *P. elaeisis* representada
25 pelo desempenho, condicionamento físico e tolerância térmica, começou a ser comprometida,
26 o que culminou na degeneração da população na G5.

27

28 **Palavras-chave:** Condicionamento físico. Tolerância térmica. Controle de qualidade

29

30

31

32

33

34

35

36

37

38 **Introdução**

39

40 A expressão temperatura flutuante engloba escalas de tempo e transições de temperatura
41 natural ou artificialmente induzida (COLINET et al., 2015). Os insetos expostos a essa condição
42 ambiental, podem apresentar respostas variáveis no que diz respeito as características
43 biológicas ou fisiológicas e podem lidar com essa variabilidade térmica por meio da
44 aclimatação. Sob essa perspectiva, supõe-se que as oscilações térmicas podem causar impactos
45 positivos, com reparação ao estresse acumulado durante a exposição aos extremos térmicos, ou
46 negativos por meio de danos acumulados por exposições consecutivas (ABRAM et al., 2017;
47 BOZINOVIC et al., 2014; COLINET, et al., 2015; FURLONG; ZALUCKI, 2017;
48 KINGSOLVER; WOODS, 1997; TERBLANCHE; NYAMUKONDIWA; KLEYNHANS,
49 2010)

50 Os inimigos naturais criados sob condições térmicas flutuantes têm potencial em
51 produzir descendentes com maior habilidade em tolerar flutuações de temperatura no momento
52 da liberação em campo, características que pode ser transmitidas para próximas gerações
53 (transgeracional) e favorecer o desempenho e plasticidade da progênie sob regimes flutuantes
54 (CHIDAWANYIKA et al., 2017; MANENTI et al., 2014; SGRÒ; TERBLANCHE;
55 HOFFMANN, 2016). CASTELLANOS et al. (2019), verificaram que a população de
56 *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platigastridae) promissor parasitoide de ovos de percevejos
57 ao ser submetida por quatro gerações em regime de flutuação térmica diurna de 30 °C e noturna
58 de 20 °C, apresentou melhor sobrevivência em comparação àquela mantida em temperatura
59 constante de 25 °C, comumente utilizada em criação massal deste parasitoide.

60 Normalmente os insetos terrestres enfrentam condições de campo com flutuações
61 térmicas diárias (BANNERMAN E ROITBERG 2014; COLINET et al. 2015), assim, seria
62 recomendável que as instalações das biofábricas utilizassem temperaturas flutuantes. No
63 entanto, a maioria destas por uma questão de praticidade ainda utilizam condições de
64 temperatura constante, a qual proporciona taxas consistentes de crescimento e
65 desenvolvimento, visando atender a produção em larga escala de inimigos naturais (PARRA
66 2010; CHIDAWANYIKA E TERBLANCHE 2011; SØRENSEN et al. 2012).

67 Assim, tradicionalmente em criação de parasitoides, normalmente adota-se temperatura
68 constante, estável e uniforme durante todo o ciclo visando sincronizar o desenvolvimento. No
69 entanto, essa condição pode impactar na qualidade dos insetos produzidos, os quais não estão
70 adaptados às oscilações térmicas que estarão sujeitos no momento da liberação em campo,
71 principalmente, levando-se em consideração as condições da agricultura tropical no Brasil.

72 Assim, normalmente, a temperatura constante de 25 °C é utilizada para criar por exemplo a
73 microvespa *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitoide de ovos
74 criado em larga escala e comercializado amplamente no mundo devido a simplicidade de
75 criação e capacidade de controlar diferentes espécies de lepidópteros-praga (CALVIN et al.
76 1984; HARRISON 1985; PARRA E ZUCCHI 2004; ALMEIDA, 2020).

77 O endoparasitoide gregário *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) tem sido
78 comercializado visando inviabilizar as pupas de lepidópteros desfolhadores em áreas agrícolas
79 e florestais (BITTENCOURT; BERTI FILHO, 1999; PEREIRA, et al., 2009; RODRÍGUEZ-
80 DIMATÉ et al., 2016). Normalmente, a criação massal tem sido realizada em condições de
81 temperatura constante utilizando o hospedeiro alternativo *Tenebrio molitor* (Coleoptera:
82 Tenebrionidae) (ZANUNCIO et al., 2008).

83 Embora desde o primeiro relato em pupas de *Eupseudosoma involuta* (Lepidoptera:
84 Arctiidae) e *Euselasia euceris* (Lepidoptera: Riodinidae), *P. elaeisis* tenha sido estudado em
85 diversas espécies de pupas de insetos hospedeiros (BITTENCOURT; BERTI FILHO, 1999,
86 2004; CANDELÁRIA; WILCKEN, 2014; DELVARE; LASALLE, 1993; GIL-SANTANA;
87 TAVARES, 2006; MARTINS, 2016; MORAIS et al., 2019; PEREIRA; ZANUNCIO; 2008;
88 PEREIRA et al., 2009; RODRÍGUEZ-DIMATÉ et al., 2016; TAVARES et al., 2019; ZACHÉ
89 et al., 2013; ZANUNCIO et al., 2015), não há informações sobre o desempenho desse
90 parasitoide submetido a regime térmico flutuante. Toda literatura em vigor aborda apenas as
91 características biológicas de *P. elaeisis* em regime de temperatura constante (PEREIRA et al.
92 2009, 2011, 2013).

93 Com base nos resultados de literatura utilizando o parasitoide de ovos *Telenomus podisi*
94 (Hymenoptera: Scelionidae) (CASTELLANOS et al., 2019), o besouro desfolhador
95 *Zygotogramma bicolorata* (Coleoptera: Chrysomelidae), agente de controle biológico de plantas
96 invasoras (CHIDAWANYIKA et al., 2017), demais artigos de revisão sobre o assunto
97 (COLINET et al. 2015; CHEVIN E HOFFMANN 2017), nós hipotetizamos que criação de *P.*
98 *elaeisis* em regime térmico flutuante pode melhorar o desempenho e vigor dos descendentes,
99 com maior chance de adaptação às condições de oscilação térmica durante o momento das
100 liberações.

101 Dessa forma, em nossa pesquisa simulamos dois regimes térmicos para a criação de *P.*
102 *elaeisis* por sete gerações, Regime Térmico Flutuante (RTF) mantido à 30±2 °C durante o dia
103 e à 20±2 °C a noite e Regime Térmico Constante (RTC), considerado o regime térmico padrão
104 de criação. Nosso objetivo foi determinar o desempenho de *P. elaeisis*, o condicionamento

105 físico e a tolerância térmica das fêmeas em RTF visando produzir indivíduos mais vigorosos e
106 com melhor desempenho e qualidade.

107

108 **Material e Métodos**

109

110 **Insetos**

111

112 Para multiplicação de *P. elaeisis*, foram utilizadas pupas de *T. molitor* com até 48 horas
113 de formadas. Adultos e larvas de *T. molitor* foram mantidos em recipientes plásticos (24×20×15
114 cm) e alimentados com dieta composta por farelo de trigo (97%) e levedo de cerveja (3%)
115 (ZAMPERLINE E ZANUNCIO, 1992; OLIVEIRA et al. 2004), fatias de chuchu *Sechium*
116 *edule* (Cucurbitaceae) foram utilizadas como fonte de umidade e pão seco. A criação foi
117 mantida em sala com condições controladas de temperatura 25 ± 2 °C, umidade relativa 70 ± 10
118 % e escotofase. Parte das pupas obtidas são utilizados para manutenção da criação de *T. molitor*
119 e o restante para criação do parasitoide.

120 Adultos do parasitoide alimentados com mel puro foram mantidos em gaiola de acrílico
121 (30×30×60 cm). As pupas foram expostas ao parasitismo, na proporção 7:1 (sete fêmeas para
122 uma pupa hospedeira) durante 48 horas, após o qual, foram acondicionadas em potes plásticos
123 (12×7,5 cm) até a emergência de adultos. A criação foi mantida em sala com condições
124 controladas de temperatura 25 ± 2 °C, umidade relativa $70\pm 10\%$ e fotofase de 14 horas
125 (ZANUNCIO et al., 2008).

126

127 **Obtenção das populações de parasitoides em regime de temperatura constante e flutuante**

128

129 Inicialmente, foram estabelecidas duas populações com aproximadamente 1.000
130 indivíduos recém-emergidos de *P. elaeisis*, obtidos da criação de manutenção, consideradas a
131 geração parental (G0). Os parasitoides alimentados com mel puro foram acondicionados em
132 potes de vidro (14,5×17 cm) vedados com tecido *voil* e elástico. Foram utilizados dois regimes
133 térmicos: RTC de 25 ± 2 °C (tratamento controle) e RTF de 30 ± 2 °C durante o dia (12h) e 20 ± 2
134 °C à noite (12 h). As duas populações foram mantidas em câmaras climatizadas (@Eletrolab) a
135 $70\pm 10\%$ de UR e fotofase de 14 horas.

136 Após 24 h de aclimação a cada regime térmico foram ofertadas as fêmeas de *P. elaeisis*
137 (G0) pupas do hospedeiro alternativo *T. molitor* ao parasitismo visando a obtenção da geração
138 1 (G1). Após 24 horas de parasitismo, as pupas foram retiradas e mantidas no regime de

139 temperatura dos progenitores até o desenvolvimento completo. A partir de então, os adultos
140 emergidos foram considerados a segunda geração (G2), utilizada para os bioensaios e produção
141 das gerações subsequentes, G3, G4, G5, G6 e G7. As duas populações foram mantidas
142 continuamente e separadamente durante sete gerações sob a seleção das condições de RTC e
143 RTF.

144 Indivíduos de *P. elaeisis* provenientes de cada geração foram utilizados para
145 determinação de: i) desempenho do parasitoide; ii) condicionamento físico das fêmeas e iii)
146 tolerância térmica das fêmeas. Embora *P. elaeisis* seja um parasitoide gregário nesses
147 bioensaios foram utilizadas apenas uma fêmea acasalada com até 24 horas sem experiência
148 prévia em parasitismo. Cada fêmea foi acondicionada em tubo de vidro de fundo chato (2,5 ×
149 8,5 cm) vedado com tecido *voil* e alimentadas com uma gotícula de mel. Padronizou-se a
150 utilização das pupas de *T. molitor* com até 48 horas e o parasitismo por até 24 horas.

151

152 **Desempenho**

153

154 Para determinar se o RTF afeta o desempenho de *P. elaeisis*, vinte fêmeas de cada
155 regime térmico e geração foram avaliadas em relação ao parasitismo, duração do ciclo (ovo-
156 adulto), emergência, número de descendentes ou progênie e razão sexual.

157 O parasitismo foi avaliado pela interrupção do ciclo de *T. molitor* e alteração na
158 coloração da pupa; a emergência pelo completo desenvolvimento de ovo a adulto de *P. elaeisis*
159 e a razão sexual pelo produto da divisão do total de descendentes fêmeas pelo total de
160 descendentes (macho + fêmea) por pupa.

161

162 **Condicionamento físico**

163

164 Para avaliação do efeito do RTF no condicionamento físico, vinte fêmeas de cada regime
165 térmico e geração foram individualizados nas mesmas condições do bioensaio anterior, as quais
166 receberam diariamente enquanto vivas uma pupa de *T. molitor*. Cada pupa removida após 24 h
167 foi etiquetada e armazenadas em tubo plástico (1,25×7,5 cm) e mantida no respectivo regime
168 térmico dos progenitores. Foram avaliados: longevidade das fêmeas, fecundidade diária e
169 acumulada, fertilidade diária e acumulada.

170 A fecundidade acumulada foi determinada pela média do número de pupas parasitadas
171 por fêmea durante a vida e a fecundidade diária pela média do número de pupas parasitadas por
172 fêmea por dia. Da mesma forma, a fertilidade acumulada foi determinada pela média do número

173 de descendentes por fêmea durante a vida, e a fertilidade diária pela média do número de
174 descendentes por fêmea por dia.

175

176 **Tolerância térmica**

177

178 Estabelecemos os efeitos do RTC nas características do parasitoide *P. elaeisis* que foram
179 mantidos nos RTC e RTF por várias gerações. Vinte fêmeas acasaladas com até 24 horas, de
180 ambos os regimes térmicos foram individualizados e transferidas para câmara climáticas
181 (@Eletrolab) a temperaturas constantes de 15, 20, 25, 30 e 35 °C nas mesmas condições do
182 bioensaio anterior, as quais receberam diariamente enquanto vivas uma pupa de *T. molitor*.

183 Adotamos o mesmo procedimento na determinação do condicionamento físico, descrito
184 anteriormente, no entanto, as fêmeas e pupas foram mantidas a 15, 20, 25, 30 e 35 °C até a
185 emergência dos adultos.

186

187 **Análise dos dados**

188

189 Os dados foram analisados utilizando-se o software R (R Core Team, 2023) e com o
190 emprego dos pacotes car, DHARMA, lsmeans e glmmTMBs. Testes de Shapiro-Wilk e
191 Bartlett ($\alpha = 0,05$) foram aplicados para verificação dos pressupostos de normalidade dos erros
192 e homocedasticidade das variâncias, respectivamente, e como não assumiram distribuição
193 normal, os dados foram analisados por meio de Modelos Lineares Generalizados Mistos
194 (GLMM). Para cada variável resposta selecionou-se a função de ligação e distribuição de erro
195 mais apropriada (Tabela 1), seguido de teste razão de verossimilhança e comparações pelo teste
196 Tukey's post-hoc tests ($P < 0,05$).

197

198 Tabela 1 – Função de ligação e distribuição de erro das variáveis resposta dos bioensaios
199 Desempenho (D), Condicionamento térmico (CT) e Tolerância Térmica (TT), empregados nos
200 modelos lineares generalizados mistos (GLMM).

201

Variável resposta	Bioensaio	Função de ligação	Distribuição de erro
Tempo de desenvolvimento	D	Log	ziGamma
Emergência	D	Log	Binomial negativa
Progênie	D	Log	ziGamma
Longevidade das fêmeas	Cf	Log	Binomial negativa
Fecundidade diária	Cf	Log	Tweedie

Fecundidade acumulada	Cf	Log	Binomial negativa
Fertilidade diária e acumulada	Cf e Tt	Log	Binomial negativa
Fecundidade diária	Tt	Logit	Beta
Fecundidade acumulada	Tt	Log	ziGamma

202

203 **Resultados**

204

205 Embora a população estabelecida em RTC tenha sido mantida por sete gerações a
 206 população exposta em RTF degenerou a partir da 6ª geração, dessa forma, os resultados serão
 207 apresentados apenas até as cinco primeiras gerações.

208

209 **Desempenho**

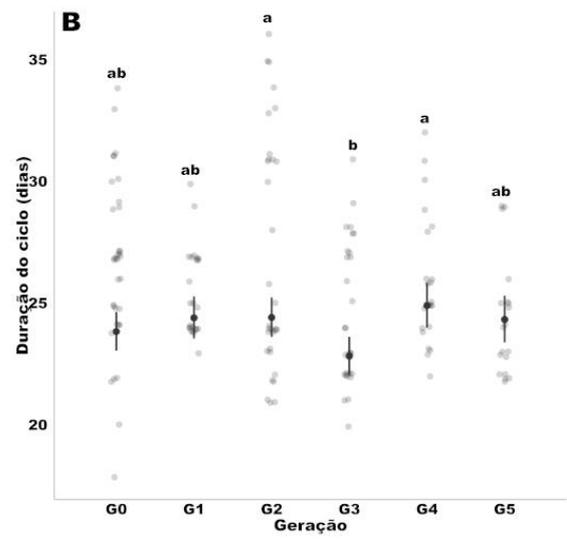
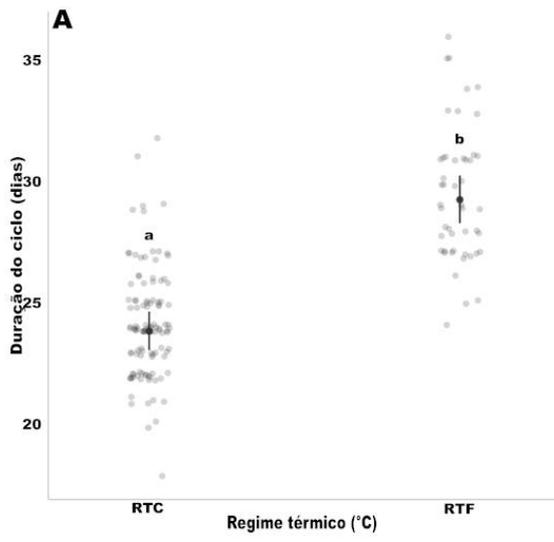
210

211 Quando a população de *P. elaiesis* foi mantida em RTF por cinco gerações todas as
 212 pupas foram parasitadas e não houve efeito do regime térmico e gerações sobre a razão sexual.
 213 Com relação a duração do ciclo (ovo-adulto) os dados não se ajustaram aos modelos para
 214 interação entre o regime térmico e gerações, porém, houve efeito entre os regimes térmicos
 215 ($\chi^2 = 159,39, GL = 1, P < 0,001$), com prolongamento do ciclo em RTF (Figura 1A), e entre
 216 as gerações ($\chi^2 = 15,41, GL = 5, P = 0,009$), com menor duração na G3 em relação G2 e G4,
 217 porém sem diferir das demais (Figura 1B).

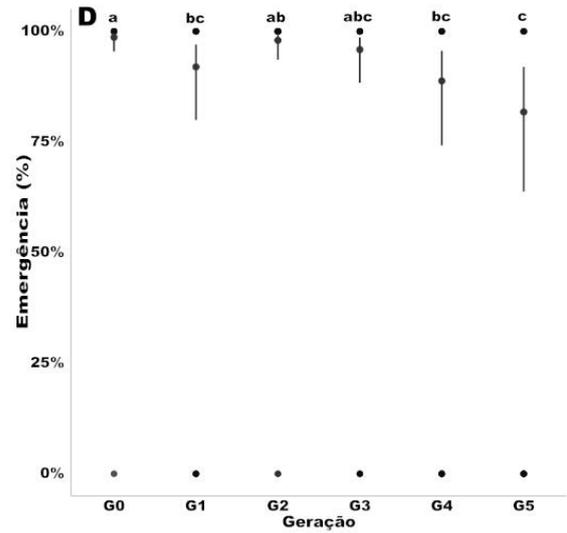
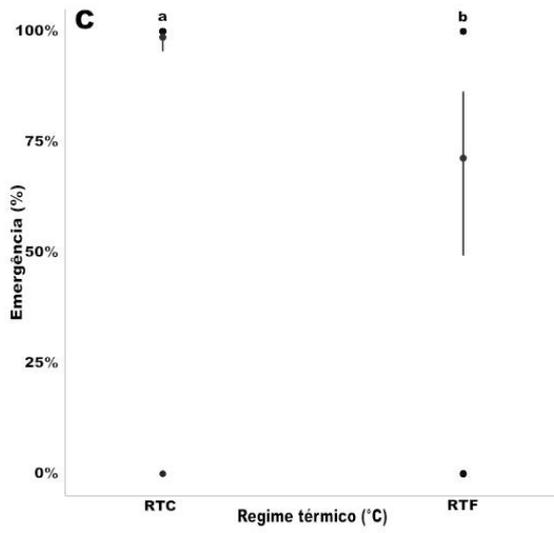
218 Ao avaliarmos a taxa de emergência os dados de interação entre o regime térmico e
 219 geração não se ajustaram aos modelos, porém houve efeito dos regimes térmicos ($\chi^2 =$
 220 $56,32, GL = 1, P < 0,0001$), sendo 2,5 vezes menor no RTF em relação ao RTC, 38% e 95%,
 221 respectivamente (Figura 1C). A emergência foi afetada entre as gerações ($\chi^2 = 24,35, GL =$
 222 $5, P < 0,001$), sendo superior na geração parental (G0) em relação a G1, G3, G4 e G5 (Figura
 223 1D).

224 Quando quantificamos a progênie ou o número de descendentes, os dados de interação
 225 entre regime térmico e geração não se ajustaram aos modelos, mas houve efeito entre os regimes
 226 térmicos ($\chi^2 = 37,74, GL = 1, P < 0,0001$), sendo que no RTF o número de descendentes foi
 227 aproximadamente 1,7 vezes menor que no RTC (Figura 1E) e entre as gerações, ($\chi^2 =$
 228 $14,76, GL = 5, P = 0,011$), sendo que o número de descendentes foi maior na G3 em
 229 comparação com G0, não diferindo das demais gerações (Figura 1F).

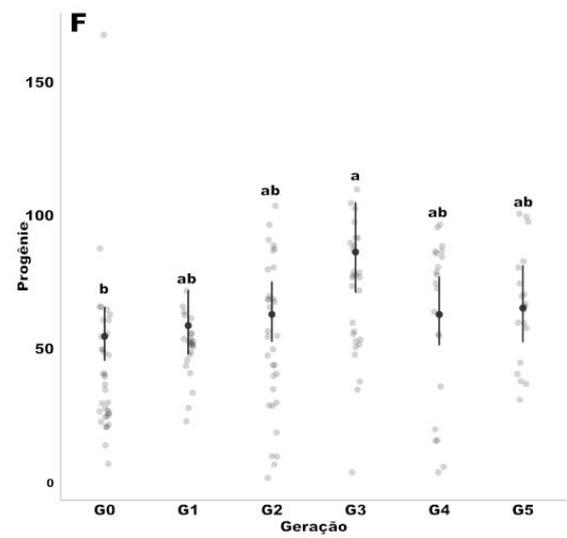
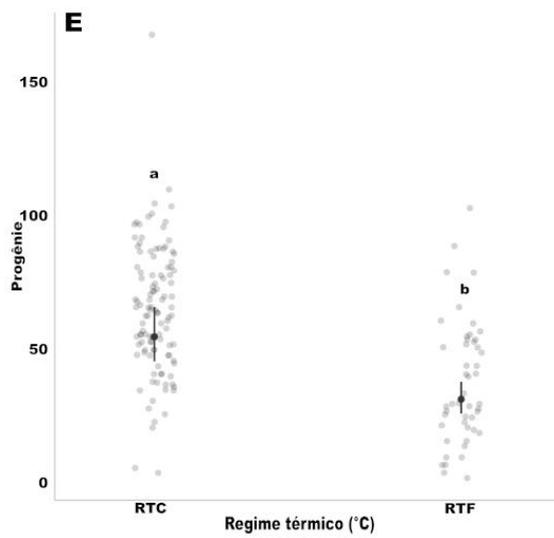
230



231



232



233

234 Figura 1 - Duração do ciclo × regime térmico (A), duração do ciclo × geração (B), emergência
235 × regime térmico (C), emergência × geração (D), progênie × regime térmico (E) e progênie ×
236 geração (F) de *Palmistichus elaeisis* mantidos sob regimes térmicos constante e flutuante
237 durante cinco gerações.

238

239 **Condicionamento físico**

240

241 Ao simularmos o condicionamento físico das fêmeas de *P. elaeisis* mantidas em RTF
242 por cinco gerações, observamos que para a longevidade das fêmeas não ocorreu interação entre
243 os regimes térmicos e as gerações ($\chi^2 = 1,06$, $GL = 4$, $P = 0,9010$), no entanto, houve
244 efeito entre as gerações ($\chi^2 = 14,54$, $GL = 4$, $P = 0,0060$). Nas gerações iniciais G1, G2 e
245 G3 as fêmeas sobreviveram por mais dias em comparação com a última G5 (Figura 2A). Para
246 os regimes térmicos não houve efeito ($\chi^2 = 2,72$, $GL = 1$, $P = 0,0990$).

247 Com relação a fecundidade diária os dados de interação entre regime térmico e gerações
248 não se ajustaram ao modelo e não houve efeito entre os regimes térmicos ($\chi^2 = 0,63$, $GL =$
249 1 , $P < 0,4275$) e entre as gerações ($\chi^2 = 8,44$, $GL = 4$, $P < 0,0766$). No entanto, para
250 fecundidade acumulada, apesar dos dados de interação não terem se ajustados aos modelos,
251 houve efeito entre as gerações ($\chi^2 = 56,26$, $GL = 4$, $P < 0,0001$). Maior fecundidade
252 acumulada foi observada na G2 em comparação com G4 e G5, sendo na G5 a menor
253 fecundidade acumulada em relação as primeiras gerações (Figura 2B). Considerando os dados
254 fecundidade acumulada nos regimes térmicos não se ajustaram ao modelo.

255 Para fertilidade diária houve interação entre os regimes térmicos e as gerações ($\chi^2 =$
256 $30,16$, $GL = 4$, $P < 0,0001$), sendo que no RTF a partir da G3 houve redução considerável na
257 fertilidade diária, o que não ocorreu no RTC nas cinco gerações. Apenas houve diferença no
258 RTC entre a G1 e a G3, com menor fertilidade diária na G1 (Tabela 2).

259 Para fertilidade acumulada os dados de interação entre regime térmico e gerações não
260 se ajustaram ao modelo, no entanto houve efeito entre os regimes térmicos ($\chi^2 = 80,29$, $GL =$
261 1 , $P < 0,0001$), sendo que no RTF as fêmeas de *P. elaeisis* apresentaram 2,7 vezes menor
262 fertilidade acumulada do que no RTC; 31,53 e 87,01, respectivamente (Figura 2C). Houve
263 efeito entre as gerações ($\chi^2 = 12,72$, $GL = 4$, $P = 0,013$), com maior fertilidade acumulada na
264 G5 em relação a G4, porém semelhantes nas gerações G1, G2 e G3 (Figura 2D).

265

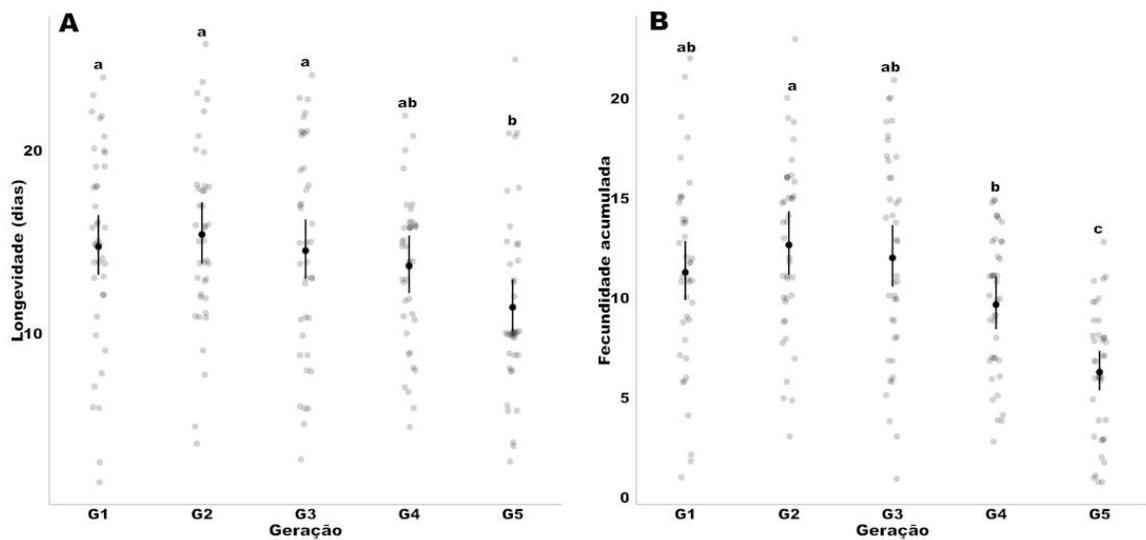
266

267 Tabela 2 – Fertilidade diária do parasitoide *Palmistichus elaeisis* mantidos em regime térmico
 268 de temperatura constante e flutuante durante cinco gerações.
 269

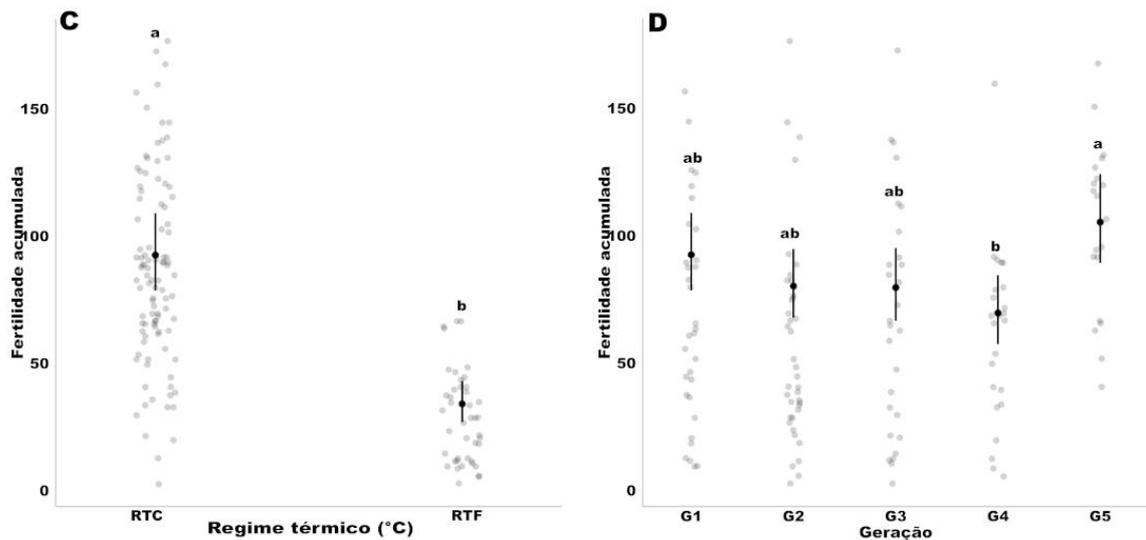
Regime térmico	Geração	Fertilidade diária
constante	G1	73,0 ± 0,0003 bc
constante	G2	83,5 ± 0,0002 cd
constante	G3	84,5 ± 0,0002 d
constante	G4	80,2 ± 0,0002 cd
constante	G5	75,7 ± 0,0003 bcd
flutuante	G1	81,4 ± 0,0002 cd
flutuante	G2	84,1 ± 0,0002 d
flutuante	G3	82,8 ± 0,0002 cd
flutuante	G4	64,8 ± 0,0002 b
flutuante	G5	34,3 ± 0,0003 a

270 Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de
 271 probabilidade.

272



273



274

275 Figura 2 – Longevidade das fêmeas × geração (A), Fecundidade acumulada × geração (B), e
 276 fertilidade acumulada × regime térmico (C) e fertilidade acumulada × geração (D) do
 277 parasitoide *Palmistichus elaeisis* mantidos sob regimes térmicos constante e flutuante durante
 278 cinco gerações.

279

280 Tolerância Térmica

281

282 As fêmeas submetidas as temperaturas extremas de 30 e 35 °C, sobreviveram por curto
 283 período com taxas reduzidas de parasitismo e ausência de emergência, dessa forma, os dados
 284 apresentados são apenas para as temperaturas mais baixas de 15 e 20 °C.

285 Quando as fêmeas de *P. elaeisis* foram mantidas por cinco gerações em RTF e, após 24
 286 h de emergência submetidas ao parasitismo em condições de RTC à 15, 20 e 25 °C, observamos
 287 que para fecundidade diária houve interação entre os regimes térmicos e as gerações ($\chi^2 =$
 288 127,99, $GL = 25, P < 0,0001$). As fêmeas de *P. elaeisis* mantidas em RTF e submetidas a
 289 temperatura de 20 e 25 °C na G5 apresentaram menor fecundidade diária em relação as demais
 290 gerações, o mesmo aconteceu em RTF submetidas a temperatura de 15 °C a partir da G2, com
 291 redução na fecundidade diária, principalmente na última geração (G5). Para fêmeas mantidas
 292 no RTC houve redução na fecundidade diária apenas na G5 quando submetidas a temperatura
 293 de 15 e 20 °C em relação as demais (Tabela 3).

294 Com relação a fecundidade acumulada houve interação entre os regimes térmicos e
 295 gerações ($\chi^2 = 215,46, GL = 25, P < 0,0001$), sendo que as menores fecundidades
 296 acumuladas ocorreram em RTF em fêmeas de *P. elaeisis* expostas a 15, 20 e 25 °C, na última

297 geração (G5). Mesmo para fêmeas mantidas em RTC à 25 °C houve diferença entre a G2 e G5,
298 assim como as expostas à 20 °C na G1 e à 15 °C na G5 (Tabela 3).

299 Para fertilidade diária houve interação entre os regimes térmicos e gerações ($\chi^2 =$
300 156,67, $GL = 25$, $P < 0,0001$), sendo que as fêmeas mantidas em RTF e RTC e expostas à 15
301 °C apresentaram as menores fertilidades diária nas gerações avaliadas, somente não diferindo
302 das mantidas em RTF e expostas à 20 e 25 °C na G5 (Tabela 3).

303 Com relação a fertilidade acumulada os dados de interação entre os regimes térmicos e
304 gerações não se ajustaram, no entanto houve efeito do regime térmico ($\chi^2 = 421,53$, $GL =$
305 5, $P < 0,0001$), sendo que a fertilidade acumulada foi menor em ambos os regimes expostos à
306 15 °C. Quando as fêmeas foram expostas à 20 e 25 °C a fertilidade acumulada foi menor para
307 àquelas mantidas em RTF (Figura 3A). Também houve efeito entre as gerações
308 ($\chi^2 19,51$, $GL = 5$, $P < 0,001$), sendo que a fertilidade acumulada foi menor nas gerações G0
309 e G5 em relação a G2 (Figura 3B).

310

311 **Discussão**

312

313 Embora uma das premissas para produzir inimigos naturais de qualidade seja manter as
314 criações em regime de temperatura flutuante (MIRONIDIS, 2014; TORRES; MUSOLIN;
315 ZANUNCIO, 2002), os dados obtidos no presente estudo indicam que a manutenção da
316 população de *P. elaeisis* em RTF com amplitude de 10 °C entre temperatura diurna e noturna,
317 pode afetar os aspectos biológicos relevantes desse endoparasitoide pupal. Assim, a melhor
318 performance do parasitoide foi obtida por gerações consecutivas na população mantida em RTC
319 à 25 °C.

320 Talvez, especificamente para este parasitoide 10 °C de amplitude térmica diurna-noturna
321 tenha sido excessivo, necessitando de amplitudes inferiores para sua readaptação e
322 performance. O efeitos do RTF parecem ser mais drástico de acordo a amplitude térmica e as
323 médias de temperatura diurna e noturna (COLINET et al., 2015; FISCHER et al., 2011). Nossos
324 resultados alertam para sensibilidade de *P. elaeisis* ao estresse térmico o que deve ser
325 considerado em relação às regiões geográficas mais apropriadas para liberação, assim como o
326 horário de liberação.

327

328 Tabela 3 – Fecundidade diária e acumulada e fertilidade diária do parasitoide *Palmistichus*
329 *elaieisis* mantidos em regimes térmicos constante e flutuante durante gerações consecutivas e
330 submetidas as temperaturas de 15, 20 e 25°C.

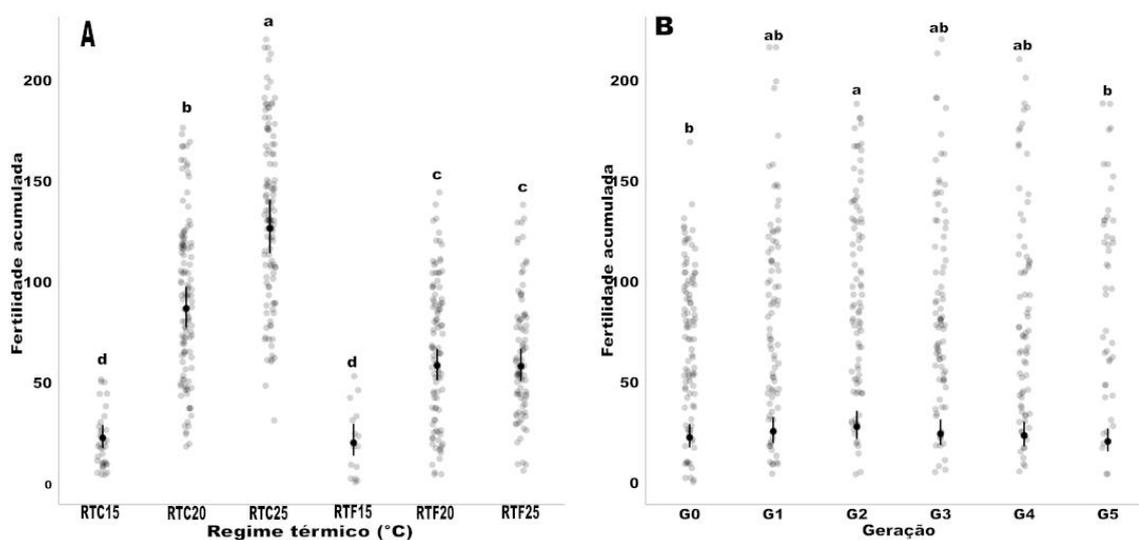
331

Regime térmico	Geração	Fecundidade Diária	Fecundidade acumulada	Fertilidade diária
Constante 25	G0	0,75 ± 0,03 ghi	11,38 ± 1,04 defghi	7,99 ± 0,89 fghijk
constante 25	G1	0,80 ± 0,03 hi	12,50 ± 1,17 fghi	11,23 ± 1,19 ijk
constante 25	G2	0,82 ± 0,03 i	14,71 ± 1,38 i	9,67 ± 1,03 ghijk
constante 25	G3	0,77 ± 0,03 ghi	13,37 ± 1,22 ghi	10,28 ± 1,08 hijk
constante 25	G4	0,77 ± 0,03 hi	9,86 ± 0,92 defghi	13,34 ± 1,37 k
constante 25	G5	0,74 ± 0,03 ghi	8,70 ± 0,80 defg	11,48 ± 1,21 jk
flutuante 25	G0	0,732 ± 0,03 fghi	10,51 ± 1,04 defghi	5,89 ± 0,80 efghi
flutuante 25	G1	0,767 ± 0,03 hi	10,24 ± 0,98 defghi	5,42 ± 0,73 efgh
flutuante 25	G2	0,756 ± 0,03 ghi	9,21 ± 0,84 defghi	5,82 ± 0,73 efgh
flutuante 25	G3	0,74 ± 0,03 fghi	10,96 ± 1,05 defghi	4,80 ± 0,64 def
flutuante 25	G4	0,69 ± 0,03 efghi	7,57 ± 0,71 def	3,90 ± 0,68 cdef
flutuante 25	G5	0,52 ± 0,03 bcd	3,90 ± 0,37 b	0,77 ± 0,21 ab
constante 20	G0	0,73 ± 0,03 fghi	13,08 ± 1,19 ghi	5,42 ± 0,70 efgh
constante 20	G1	0,67 ± 0,03defghi	8,81 ± 0,80 defg	8,67 ± 1,05 fghijk
constante 20	G2	0,74 ± 0,03 fghi	13,60 ± 1,24 ghi	7,52 ± 0,85 efghijk
constante 20	G3	0,74 ± 0,03 fghi	13,35 ± 1,22 ghi	5,55 ± 0,69 efgh
constante 20	G4	0,73 ± 0,03 fghi	14,44 ± 1,32 hi	4,85 ± 0,62 def
constante 20	G5	0,58 ± 0,03 cdef	13,45 ± 1,23 ghi	4,57 ± 0,60 cdef
flutuante 20	G0	0,68 ± 0,03 defghi	12,80 ± 1,17 ghi	5,28 ± 0,66 efg
flutuante 20	G1	0,80 ± 0,03 hi	12,01 ± 1,127 efghi	3,90 ± 0,55 cde
flutuante 20	G2	0,72 ± 0,03 fghi	11,07 ± 1,01 defghi	6,46 ± 0,76 efghij
flutuante 20	G3	0,71 ± 0,03 efghi	12,11 ± 1,10 efghi	5,29 ± 0,66 efg
flutuante 20	G4	0,53 ± 0,03 bcde	11,64 ± 1,123 defghi	2,25 ± 0,40 bcd
flutuante 20	G5	0,37 ± 0,03 b	4,45 ± 0,43 bc	0,16 ± 0,09 a
constante 15	G0	0,64 ± 0,03 defgh	9,81 ± 0,89 defghi	1,07 ± 0,25 ab
constante 15	G1	0,63 ± 0,03 defgh	9,45 ± 0,89 defghi	0,64 ± 0,19 ab
constante 15	G2	0,69 ± 0,03 defghi	11,33 ± 1,04 defghi	0,53 ± 0,17 a
constante 15	G3	0,60 ± 0,03 defg	9,77 ± 0,89 defghi	0,09 ± 0,07 a
constante 15	G4	0,64 ± 0,03 defghi	12,67 ± 1,18 ghi	0,12 ± 0,08 a
constante 15	G5	0,43 ± 0,03 bc	7,45 ± 0,68 de	0,04 ± 0,05 ab
flutuante 15	G0	0,71 ± 0,03 fghi	13,34 ± 1,22 ghi	0,54 ± 0,17 a
flutuante 15	G1	0,63 ± 0,03 defgh	9,03 ± 0,84 defghi	0,03 ± 0,03 abc
flutuante 15	G2	0,60 ± 0,03 defg	9,83 ± 0,90 defghi	0,04 ± 0,04 ab
flutuante 15	G3	0,42 ± 0,03 bc	8,88 ± 0,83 defgh	0,07 ± 0,06 a
flutuante 15	G4	0,43 ± 0,03 bc	7,25 ± 0,69 cd	0,24 ± 0,11 a
flutuante 15	G5	0,21 ± 0,03 a	2,05 ± 0,21 a	0 abcdefghijk

332 Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de
333 probabilidade.

334

335



336

337 Figura 3 – Fertilidade acumulada × regime térmico (A) e fertilidade acumulada × gerações (B)
 338 das fêmeas de *Palmistichus elaeisis* mantidas em regime térmico constante e flutuante e
 339 submetidas as temperaturas de 15, 20 e 25 °C durante o parasitismo e por cinco gerações.

340

341 Contrariamente, CASTELLANOS et al. (2019) concluíram que o RTF foi mais
 342 adequado para a criação massal de *T. podisi*, com aumento da qualidade e produtividade. Os
 343 autores obtiveram resultados promissores em RTF. Na quarta geração em RTF, observaram
 344 encurtamento do ciclo de desenvolvimento e prolongamento na longevidade. Além disso, a
 345 fecundidade acumulada foi maior em RTF em relação ao RTC na mesma geração, assim como
 346 a taxa de emergência.

347 BITTENCOURT E BERTI FILHO (2004) destacaram que o ciclo de desenvolvimento
 348 de *P. elaeisis* é suscetível às temperaturas extremas e aos diferentes hospedeiros de criação
 349 testados: *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae), *Anticarsia gemmatalis*, *Chloridea*
 350 *virescens*, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) e *Thyrinteina arnobia*
 351 (Lepidoptera: Geometridae), com variação de 40,4 dias a 18 °C e 18,1 dias à 28 °C. Estudos
 352 prévios realizados por ZANUNCIO et al. (2008) indicaram que *P. elaeisis* criado em *T. molitor*
 353 nas mesmas condições do RTC (25±2 °C; 70±10% de UR e 14 horas de fotofase) apresentaram
 354 taxas de parasitismo e emergência de 100 e 90,76%, respectivamente, duração do ciclo de 23,42
 355 dias, progênie de 70,07 indivíduos por pupa e razão sexual de 0,94 e longevidade média de
 356 22,65 dias para fêmeas e 28,3 para machos.

357 Os resultados das nossas pesquisas no RTF indicaram efeito do estresse térmico no
 358 transcorrer das gerações nas características biológicas avaliadas, embora a cada geração seja
 359 possível notar tentativa de adaptação do parasitoide para retornar às condições da geração

360 progenitora. Mesmo utilizando-se a temperatura noturna de 20 °C, próxima a adequada de 22°C
361 (BITTENCOURT E BERTI FILHO 2004) a alta temperatura diurna de 30 °C, provavelmente
362 impactou de forma negativa no desenvolvimento deste endoparasitoide pupal.

363 Parâmetros como longevidade, fecundidade de parasitoides estão intimamente ligados
364 à quantidade de reservas de energia (ABRAM et al., 2017; BERGER; WALTERS;
365 GOTTHARD, 2008; COLINET; BOIVIN; HANCE, 2007), os quais foram afetados em nossas
366 pesquisas, quando avaliamos o condicionamento físico das fêmeas de *P. elaeisis*,
367 principalmente nas últimas gerações, que pode estar relacionado com o aumento dos danos
368 oxidativos (FOUCREAU et al., 2016; LALOUETTE et al., 2011), associado com mecanismo
369 de envelhecimento (COLINET et al., 2015) que no decorrer das gerações pode ter resultado em
370 alteração no desempenho de *P. elaeisis*.

371 A fertilidade diária em RTF foi similar a obtida RTC nas três primeiras gerações, assim
372 o efeito transgeracional favoreceu o desempenho e plasticidade sob regimes flutuantes
373 inicialmente (CHIDAWANYIKA et al., 2017; MANENTI, et al., 2014; MANENTI, et al.,
374 2015; SGRÒ; TERBLANCHE; HOFFMANN, 2016), porém, houve diminuição da fertilidade
375 diária nas duas gerações subsequentes. Durante o condicionamento físico das fêmeas, a
376 fertilidade acumulada aumentou em RTF na G5 em relação a G4, antes da degeneração em RTF
377 na G6.

378 Os organismos que se adaptam em temperaturas flutuantes podem aumentar a síntese
379 de proteínas de choque térmico, suportando melhor o estresse térmico (CASTELLANOS et al.,
380 2019; FOLGUERA et al., 2011; TOMANEK, 2010), assim como apresentar maior habilidade
381 da sua progênie em tolerar flutuações de temperatura em ambientes naturais
382 (CHIDAWANYIKA et al., 2017). No entanto, para *P. elaeisis*, quando simulamos condição de
383 tolerância térmica, o desempenho reprodutivo foi comprometido no RTF, principalmente
384 quando as fêmeas foram mantidas na menor temperatura de 15 °C. Para as fêmeas expostas à
385 20 °C, tanto em RTF como em RTC o impacto foi menor durante quatro gerações e similar a
386 exposição à 25 °C em ambos os regimes tanto para fecundidade diária e acumulada quanto para
387 fertilidade diária. Como esperado a fertilidade acumulada foi maior no RTC à 25 °C na G2 em
388 relação a G5.

389 Acreditamos que a mortalidade das fêmeas de *P. elaeisis* ao serem submetidas às
390 temperaturas extremas de 30 e 35 °C, pode ser resultado de danos acumulados ao organismo ao
391 longo do tempo de exposição nas altas temperaturas. Com o aumento das taxas metabólicas há
392 esgotamento precoce dos estoques de energia necessários e, assim, menor tolerância ao estresse
393 (CHIDAWANYIKA et al., 2017; HOFFMANN, 2010). Além disso, estudos pioneiros

394 realizados por BITTENCOURT E BERTI FILHO (2004) utilizando pupas de diferentes
395 lepidópteros-praga parasitadas por *P. elaeisis* indicaram que a 30 °C o ciclo biológico do
396 parasitoide não se completa, o que também ficou evidenciado em nossa pesquisa.

397 Em contrapartida, ao submetemos as fêmeas de *P. elaeisis* provenientes tanto do RTC
398 quanto do RTF às temperaturas de 15 e 20 °C, obtivemos resultados que comprometeram a
399 performance reprodutiva do parasitoide. Assim, de modo geral insetos expostos à variações de
400 temperatura ou a períodos de baixa temperatura para conseguirem reaquecer, devem
401 restabelecer o equilíbrio iônico, processo energeticamente custoso (MACMILLAN et al. 2012;
402 CHEVIN E HOFFMANN 2017), e pode ter se acumulado no decorrer das gerações.

403 Nossos resultados, em parte corroboram com a premissa de que a falta de adaptação dos
404 insetos à oscilações de temperatura decorre do fato de que quatro gerações de seleção pode não
405 ser suficientes para favorecer a plasticidade necessária para aumentar a tolerância ambiental
406 (COOPER et al. 2012; MANENTI et al. 2014, 2015; CHEVIN E HOFFMANN 2017). No
407 entanto, no RTF a partir da G3, aptidão de *P. elaeisis* como: desempenho, condicionamento
408 físico e tolerância térmica, começam a ser comprometidas, o que culminou na degeneração da
409 população na G5. Infelizmente, na pesquisa envolvendo o parasitoide *P. elaeisis* com amplitude
410 térmica diurna-noturna de 10 °C não foi possível selecionar a população por sete gerações,
411 como previsto inicialmente. Provavelmente esse parasitoide é muito sensível a grandes
412 oscilações térmicas, o que limita sua área de atuação durante liberação em campo.

413 A degeneração da população mantida em RTF após cinco gerações, pode estar
414 relacionada a ingestão e assimilação de alimentos durante o período de temperaturas favorável,
415 e perdas metabólicas quando submetidos a temperaturas inadequadas (KINGSOLVER E
416 ARTHUR WOODS 1997; KARL E FISCHER 2008; FISCHER et al., 2011; CARRINGTON
417 et al., 2013).

418 De modo geral, nossos resultados indicam que o uso do RTF na faixa de 10 °C não
419 garantiu a produção de parasitoide dentro de um padrão de qualidade aceitável para ser adotado
420 em biofábricas. Além disso, o estabelecimento desta espécie em um ambiente onde a oscilação
421 de temperatura seja semelhante as avaliadas nestas pesquisas, pode comprometer o desempenho
422 em campo. Por outro lado, a utilização do RTC assegurou bons parâmetros biológicos para
423 criação massal de *P. elaeisis* durante sete gerações sem grandes oscilações entre gerações.

424 Assim, novas simulações em RTF se fazem necessárias com uma menor amplitude
425 térmica a longo prazo, desde que permita selecionar populações mais adaptadas ao se depararem
426 com condições ambientais adversas, comumente encontradas por todo território brasileiro.

427

428 **Conclusão**

429

430 A manutenção da população de *P. elaeisis* em RTF não assegurou desempenho,
431 condicionamento físico e tolerância térmica das fêmeas dentro dos padrões de qualidade
432 aceitáveis e no transcorrer das gerações.

433

434

435 **Referências**

436

437 ABRAM, P. K.; BOIVIN, G.; MOIROUX, J.; BRODEUR, J. Behavioural effects of
438 temperature on ectothermic animals: unifying thermal physiology and behavioural plasticity.
439 **Biological Reviews**, v. 92, n. 4, p. 1859–1876, 2017.

440 ALMEIDA, R. de P. Controle de qualidade na produção massal de *Trichogramma pretiosum*,
441 1879 (Hymenoptera: Trichogratidae) Campina Grande: **Embrapa Algodão**, 2020. PDF (46
442 p.) : il. color. – (Documentos / Embrapa Algodão, ISSN 0103-0205; 282).

443 BANNERMAN, J. A.; ROITBERG, B. D. Impact of extreme and fluctuating temperatures on
444 aphid-parasitoid dynamics. **Oikos**, v. 123, n. 1, p. 89–98, 2014.

445 BERGER, D.; WALTERS, R.; GOTTHARD, K. What limits insect fecundity? Body size-
446 and temperature-dependent egg maturation and oviposition in a butterfly. **Functional**
447 **Ecology**, v. 22, n. 3, p. 523–529, 2008.

448 BITTENCOURT, M. A. L.; BERTI FILHO, E. Preferência de *Palmistichus elaeisis* por pupas
449 de diferentes lepidópteros praga. **Scientia Agricola**, v. 56, n. 4, p. 1281–1283, 1999.

450 BITTENCOURT, M. A. L.; BERTI FILHO, E. Exigências térmicas para o desenvolvimento
451 de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera, Eulophidae) em pupas de cinco espécies de
452 lepidópteros. **Iheringia. Série Zoologia**, v. 94, n. 3, p. 321–323, 2004b.

453 BITTENCOURT, M. A. L.; BERTI FILHO, E. Desenvolvimento dos estágios imaturos de
454 *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera, Eulophidae) em pupas de
455 Lepidoptera. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 48, n. 1, p. 65–68, 2004a.

456 BOZINOVIC, F.; ORELLANA, M. J. M.; MARTEL, S. I.; BOGDANOVICH, J. M. Testing
457 the heat-invariant and cold-variability tolerance hypotheses across geographic gradients.

- 458 **Comparative Biochemistry and Physiology -Part A: Molecular and Integrative**
459 **Physiology**, v. 178, p. 46–50, 2014. Elsevier Inc.
- 460 CANDELÁRIA, M. C.; WILCKEN, C. F. *Palmistichus elaeisis* (Delvare & LaSalle, 1993)
461 (Hymenoptera: Eulophidae), possible agent for the biological control of *Urbanus proteus*
462 (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: HesperIIDae). **SHILAP Revista de Lepidopterología**, v. 42,
463 n. 167, p. 379–383, 2014.
- 464 CARRINGTON, L. B.; ARMIJOS, M. V.; LAMBRECHTS, L.; BARKER, C. M.; SCOTT,
465 T. W. Effects of Fluctuating Daily Temperatures at Critical Thermal Extremes on *Aedes*
466 *aegypti* Life-History Traits. **PLoS ONE**, v. 8, n. 3, 2013.
- 467 CASTELLANOS, N. L.; BUENO, A. F.; HADDI, K.; et al. The Fitness and Economic
468 Benefits of Rearing the Parasitoid *Telenomus podisi* Under Fluctuating Temperature Regime.
469 **Neotropical Entomology**, v. 48, n. 6, p. 934–948, 2019.
- 470 CHEVIN, L. M.; HOFFMANN, A. A. Evolution of phenotypic plasticity in extreme
471 environments. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v.
472 372, n. 1723, 2017.
- 473 CHIDAWANYIKA, F.; NYAMUKONDIWA, C.; STRATHIE, L.; FISCHER, K. Effects of
474 thermal regimes, starvation and age on heat tolerance of the parthenium beetle *Zygogramma*
475 *bicolorata* (Coleoptera: Chrysomelidae) following dynamic and static protocols. **PLoS ONE**,
476 v. 12, n. 1, p. 1–17, 2017.
- 477 CHIDAWANYIKA, F.; TERBLANCHE, J. S. Costs and benefits of thermal acclimation for
478 codling moth, *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae): Implications for pest control and
479 the sterile insect release programme. **Evolutionary Applications**, v. 4, n. 4, p. 534–544,
480 2011.
- 481 COLINET, H.; BOIVIN, G.; HANCE, T. Manipulation of parasitoid size using the
482 temperature-size rule: Fitness consequences. **Oecologia**, v. 152, n. 3, p. 425–433, 2007.
- 483 COLINET, H.; SINCLAIR, B. J.; VERNON, P.; RENAULT, D. Insects in fluctuating
484 thermal environments. **Annual Review of Entomology**, v. 60, p. 123–140, 2015.
- 485 COOPER, B. S.; HAMMAD, L. A.; FISHER, N. P.; KARTY, J. A.; MONTTOOTH, K. L. In a
486 variable thermal environment selection favors greater plasticity of cell membranes in

- 487 *Drosophila melanogaster*. **Evolution**, v. 66, n. 6, p. 1976–1984, 2012.
- 488 DELVARE, G.; LASALLE, J. A new genus of tetrastichinae (Hymenoptera: Eulophidae)
489 from the neotropical region, with the description of a new species parasitic on key pests of oil
490 palm. **Journal of Natural History**, v. 27, n. 2, p. 435–444, 1993.
- 491 FISCHER, K.; KÖLZOW, N.; HÖLTJE, H.; KARL, I. Assay conditions in laboratory
492 experiments: Is the use of constant rather than fluctuating temperatures justified when
493 investigating temperature-induced plasticity? **Oecologia**, v. 166, n. 1, p. 23–33, 2011.
- 494 FOLGUERA, G.; BASTÍAS, D. A.; CAERS, J.; et al. An experimental test of the role of
495 environmental temperature variability on ectotherm molecular, physiological and life-history
496 traits: Implications for global warming. **Comparative Biochemistry and Physiology - A**
497 **Molecular and Integrative Physiology**, v. 159, n. 3, p. 242–246, 2011. Elsevier Inc.
- 498 FOUCREAU, N.; JEHAN, C.; LAWNICZAK, M.; HERVANT, F. Fluctuating versus
499 constant temperatures: Effects on metabolic rate and oxidative damages in freshwater
500 crustacean embryos. **Canadian Journal of Zoology**, v. 94, n. 8, p. 591–598, 2016.
- 501 FURLONG, M. J.; ZALUCKI, M. P. Climate change and biological control: the
502 consequences of increasing temperatures on host–parasitoid interactions. **Current Opinion in**
503 **Insect Science**, v. 20, p. 39–44, 2017. Elsevier Inc.
- 504 GIL-SANTANA, H. R.; TAVARES, M. T. *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle
505 (Hymenoptera, Eulophidae): a new Delvarare parasitoid of *Dione juno juno* (Cramer)
506 (Lepidoptera, Nymphalidae) parasitoid. **Scientific Communication**, v. 48, n. 1, p. 891–892,
507 2006.
- 508 HARRISON, M. H. Effects of thermal stress and exercise on blood volume in humans.
509 **Physiological Reviews**, v. 65, n. 1, p. 149–209, 1985.
- 510 HOFFMANN, A. A. Physiological climatic limits in *Drosophila*: Patterns and implications.
511 **Journal of Experimental Biology**, v. 213, n. 6, p. 870–880, 2010.
- 512 KARL, I.; FISCHER, K. Why get big in the cold? Towards a solution to a life-history puzzle.
513 **Oecologia**, v. 155, n. 2, p. 215–225, 2008.
- 514 KINGSOLVER, J. G.; ARTHUR WOODS, H. Thermal sensitivity of growth and feeding in
515 *Manduca sexta* caterpillars. **Physiological Zoology**, v. 70, n. 6, p. 631–638, 1997.

- 516 LALOUETTE, L.; WILLIAMS, C. M.; HERVANT, F.; SINCLAIR, B. J.; RENAULT, D.
517 Metabolic rate and oxidative stress in insects exposed to low temperature thermal fluctuations.
518 **Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology**, v.
519 158, n. 2, p. 229–234, 2011. Elsevier Inc.
- 520 MACMILLAN, H. A.; WILLIAMS, C. M.; STAPLES, J. F.; SINCLAIR, B. J.
521 Reestablishment of ion homeostasis during chill-coma recovery in the cricket *Gryllus*
522 *pennsylvanicus*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of**
523 **America**, v. 109, n. 50, p. 20750–20755, 2012.
- 524 MANENTI, T.; LOESCHCKE, V.; MOGHADAM, N. N.; SØRENSEN, J. G. Phenotypic
525 plasticity is not affected by experimental evolution in constant, predictable or unpredictable
526 fluctuating thermal environments. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 28, n. 11, p. 2078–
527 2087, 2015.
- 528 MANENTI, T.; SØRENSEN, J. G.; MOGHADAM, N. N.; LOESCHCKE, V. Predictability
529 rather than amplitude of temperature fluctuations determines stress resistance in a natural
530 population of *Drosophila simulans*. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 27, n. 10, p. 2113–
531 2122, 2014.
- 532 MARTINS, D. J. Aspectos biológicos do parasitoide *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera:
533 Eulophidae) em diferentes hospedeiros. Dissertação apresentada ao programa de Pós-
534 Graduação em Ciência Florestal a Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri,
535 1–77, p. 1–77, 2016.
- 536 MIRONIDIS, G. K. Development, survivorship and reproduction of *Helicoverpa armigera*
537 (Lepidoptera: Noctuidae) under fluctuating temperatures. **Bulletin of Entomological**
538 **Research** 104:751–764, 2014.
- 539 MORAIS, W. C. DE C.; PLATA-RUEDA, A.; MARTÍNEZ, L. C.; et al. Potential of
540 *Diaphania hyalinata* and *Tenebrio molitor* as alternative host for mass rearing of *Palmistichus*
541 *elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). **Entomologia Generalis**, v. 39, n. 3–4, p. 285–294,
542 2019.
- 543 OLIVEIRA, H. N.; PRATISSOLI, D.; PEDRUZZI, E. P.; ESPINDULA, M. C. Development
544 of the predator *Podisus nigrispinus* fed on *Spodoptera frugiperda* and *Tenebrio molitor*.
545 **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 39, n. 10, p. 947–951, 2004.

- 546 PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. Trichogramma in Brazil: feasibility of use after twenty
547 years of research. **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 3, p. 271–281, 2004.
- 548 PARRA, J. R. P. Egg Parasitoids in Agroecosystems with Emphasis on Trichogramma. **Egg**
549 **Parasitoids in Agroecosystems with Emphasis on Trichogramma**, p. 267–292, 2010.
- 550 PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, T. V.; ZANUNCIO, J. C. Species of Lepidoptera Defoliators
551 of Eucalyptus as New Host for the Parasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera :
552 Eulophidae). , v. 51, n. April, p. 259–262, 2008.
- 553 PEREIRA, F.; ZANUNCIO, J.; SERRÃO, J.; PASTORI, P.; RAMALHO, F. S. Reproductive
554 performance of *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) with
555 previously refrigerated pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). **Brazilian**
556 **Journal of Biology**, v. 69, n. 3, p. 865–869, 2009.
- 557 RODRÍGUEZ-DIMATÉ, F. A.; PODEROSO, J. C. M.; RIBEIRO, R. C.; et al. *Palmistichus*
558 *elaieisis* (Hymenoptera: Eulophidae) Parasitizing Pupae of the Passion Fruit Pest *Agraulis*
559 *vanillae vanillae* (Lepidoptera: Nymphalidae). **Florida Entomologist**, v. 99, n. 1, p. 130–132,
560 2016.
- 561 SGRÒ, C. M.; TERBLANCHE, J. S.; HOFFMANN, A. A. What Can Plasticity Contribute to
562 Insect Responses to Climate Change? **Annual Review of Entomology**, v. 61, n. December, p.
563 433–451, 2016.
- 564 SØRENSEN, J. G.; ADDISON, M. F.; TERBLANCHE, J. S. Mass-rearing of insects for pest
565 management: Challenges, synergies and advances from evolutionary physiology. **Crop**
566 **Protection**, v. 38, p. 87–94, 2012. Elsevier Ltd.
- 567 TAVARES, A. W. D. S.; MASSON, M. V; FERREIRA-FILHO, P. J.; LEONARDO, R.;
568 SILVA, W. M. Parasitism of Lepidopteran Defoliators of Urban Plants by *Palmistichus*
569 *elaieisis* (Hymenoptera: Eulophidae) Parasitism of lepidopteran defoliators of urban plants by
570 *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). , v. 101, n. 3, p. 453–457, 2019.
- 571 TERBLANCHE, J. S.; NYAMUKONDIWA, C.; KLEYNHANS, E. Thermal variability
572 alters climatic stress resistance and plastic responses in a globally invasive pest, the
573 Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*). **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.
574 137, n. 3, p. 304–315, 2010.

- 575 TOMANEK, L. Variation in the heat shock response and its implication for predicting the
576 effect of global climate change on species' biogeographical distribution ranges and metabolic
577 costs. **Journal of Experimental Biology**, v. 213, n. 6, p. 971–979, 2010.
- 578 TORRES, J. B.; MUSOLIN, D. L.; ZANUNCIO, J. C. Thermal requirements and parasitism
579 capacity of *Trissolcus brochymenae* (Ashmead) (Hymenoptera: Scelionidae) under constant
580 and fluctuating temperatures, and assessment of development in field conditions. **Biocontrol**
581 **Science and Technology**, v. 12, n. 5, p. 583–593, 2002.
- 582 VAN LENTEREN, J. C.; BOLCKMANS, K.; KÖHL, J.; RAVENSBERG, W. J.;
583 URBANEJA, A. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new
584 opportunities. **BioControl**, v. 63, n. 1, p. 39–59, 2018.
- 585 VAN LENTEREN, J. Controle de Qualidade de Agentes de Controle Biológico Produzidos
586 Massalmente. **Health & Place - HEALTH PLACE**, , n. March, 2010.
- 587 ZACHÉ, B.; COSTA, R. R. DA; ZANUNCIO, J. C.; WILCKEN, C. F. *Palmistichus elaeisis*
588 (Hymenoptera: Eulophidae) Parasitizing Pupae of *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera:
589 Pyralidae). **Florida Entomologist**, v. 96, n. 3, p. 1207–1208, 2013.
- 590 ZANUNCIO, J. C.; PEREIRA, F. F.; JACQUES, G. C.; TAVARES, M. T.; SERRÃO, J. E.
591 *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae), a New Alternative Host to Rear the
592 Pupae Parasitoid *Palmistichus elaeisis* Delvare; Lasalle (Hymenoptera: Eulophidae). **The**
593 **Coleopterists Bulletin**, v. 62, n. 1, p. 64–66, 2008.
- 594 ZANUNCIO, J. C.; VINHA, G. L.; RIBEIRO, R. C.; et al. *Psorocampa denticulata*
595 (Lepidoptera: Notodontidae) Pupae as an Alternative Host for *Palmistichus elaeisis*
596 (Hymenoptera: Eulophidae). **Florida Entomologist**, v. 98, n. 3, p. 1003–1005, 2015.
- 597 ZAMPERLINE B, ZANUNCIO JC. 1992. Influência da alimentação de *Tenebrio molitor* L.
598 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae) no desenvolvimento ninfal de *Podisus connexivus* Bergroth.
599 1891 (Hemiptera: Pentatomidae). **Revista Árvore** 16: 224–230.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados gerados nessa pesquisa são inéditos e contribuíram para preencher uma lacuna com relação ao armazenamento do hospedeiro *T. molitor* e do parasitoide *P. elaeisis*, focos da pesquisa. Primeiramente, confirmamos que é possível obter uma combinação de baixa temperatura \times tempo de armazenamento das pupas parasitadas e não parasitadas de *T. molitor* e dos adultos de *P. elaeisis*, sem comprometer o desempenho e a performance reprodutiva do parasitoide. Respondemos a primeira hipótese e concluímos que o armazenamento das pupas, previamente ao parasitismo, entre temperaturas de 15 e 20 °C por 10 a 15 dias, assim como, das pupas parasitadas na temperatura de 15 °C por 13 dias não comprometem o desempenho de *P. elaeisis*. Além disso, as fêmeas podem ser armazenadas por até seis dias à 15 °C sem comprometimento dos principais parâmetros biológicos (Figura 1A).

No entanto, a manipulação da temperatura simulando Regime Térmico Flutuante (RTF) com oscilação diurna noturna de 10 °C afetou o desempenho dos descendentes do endoparasitoide de pupas *P. elaeisis* e não permitiu a produção de indivíduos vigorosos e com melhor desempenho e qualidade, conforme previsto em nossa hipótese. Os resultados obtidos na pesquisa indicam que o estresse térmico fornecido a população de *P. elaeisis* exposta ao RTF acabou por degenerar a população após a 5ª geração. O desempenho de *P. elaeisis*, medido pela duração do ciclo, emergência e progênie foi afetado em condições de RTF, sendo a melhor performance do parasitoide obtida na população mantida em Regime Térmico Constante (RTC) à 25 °C por gerações consecutivas. O mesmo ocorreu para o condicionamento físico e tolerância térmica das fêmeas, com efeito sobre os parâmetros diretamente ligados a qualidade do parasitoide produzido: longevidade, fecundidade (diária e acumulada) e fertilidade (diária e acumulada) da população mantida em RTF em relação a RTC, assim como no transcorrer das gerações. Além disso, ao avaliarmos a tolerância térmica das fêmeas submetidas a temperaturas extremas de 30 e 35 °C, elas sobreviveram por apenas pouco tempo com taxas reduzidas de parasitismo e ausência total de emergência (Figura 1 B).

Trabalhos futuros se fazem necessários com o intuito de conhecer mais profundamente a aptidão de *P. elaeisis* em RTF utilizando-se uma amplitude térmica diurna noturna menor do que 10 °C. Finalmente, registramos nossa contribuição para aprimorar a criação massal de *P. elaeisis* no que diz respeito a definição de estratégias de armazenamento tanto do hospedeiro alternativo, quando do adulto do parasitoide, além de evidenciar a sensibilidade do parasitoide a oscilações térmicas o que poderá impactar diretamente no desempenho e aptidão do agente biológico em campo.

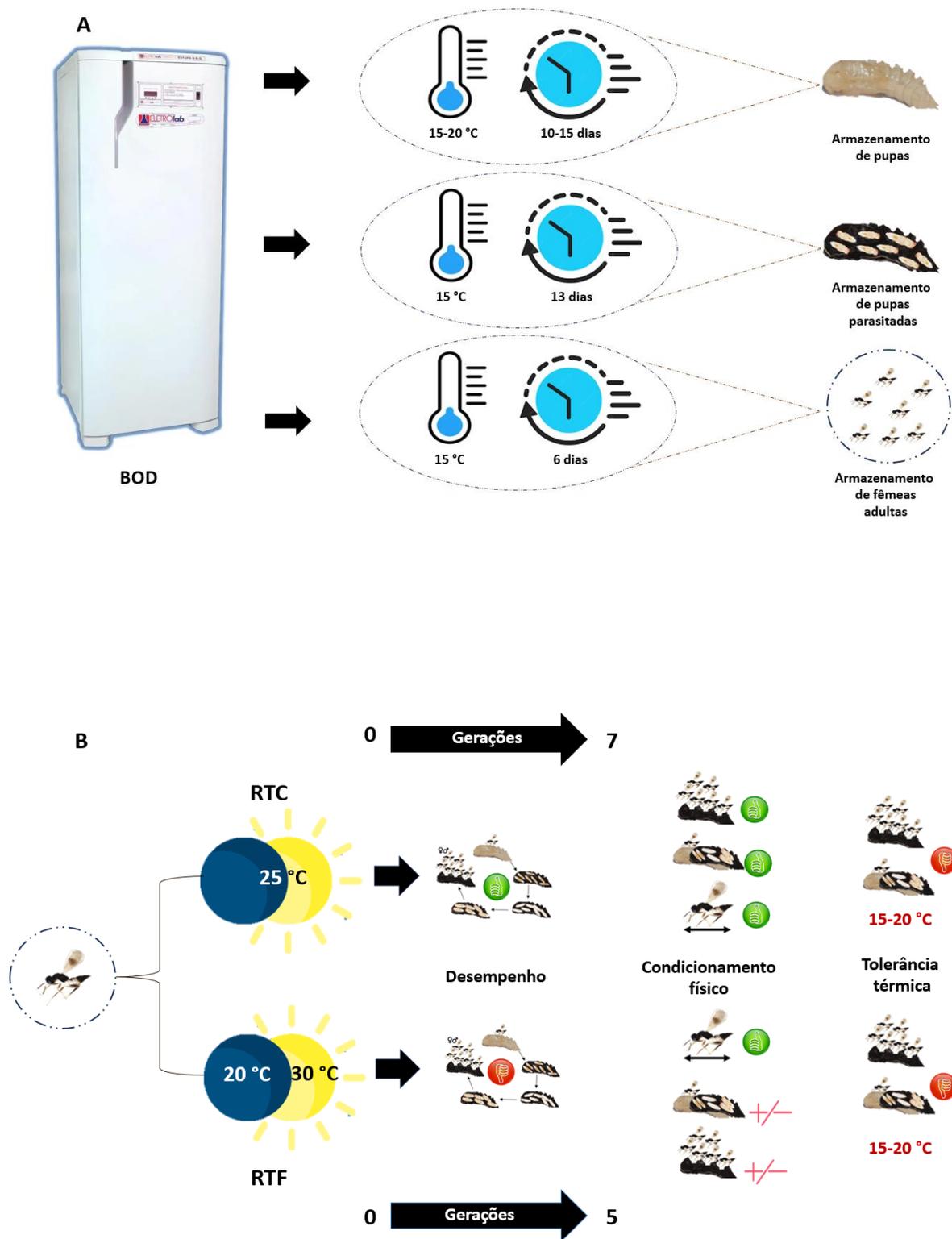


Figura 1 – Desenho esquemático com a síntese dos resultados. (A) Relação temperatura × tempo de armazenamento das pupas não parasitadas e parasitadas do hospedeiro alternativo *Tenebrio molitor* e das fêmeas do endoparasitoide. (B) Desempenho, condicionamento físico e tolerância térmica de fêmeas de *Palmistichus elaeisis* proveniente das populações submetidas a regime térmico flutuante e constante por sete gerações.